

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 774 380**

51 Int. Cl.:

<b>C07K 16/30</b>	(2006.01)
<b>C07K 16/28</b>	(2006.01)
<b>C07K 16/40</b>	(2006.01)
<b>A61P 35/00</b>	(2006.01)
<b>C07K 14/55</b>	(2006.01)
<b>A61K 47/50</b>	(2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.08.2015 PCT/EP2015/069399**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.03.2016 WO16030350**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.08.2015 E 15753700 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.12.2019 EP 3186283**

54 Título: **Politerapia de inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a tumor y anticuerpos frente a PD-L1 humano**

30 Prioridad:

**29.08.2014 EP 14182778**

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

**20.07.2020**

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)  
Grenzacherstrasse 124  
4070 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**UMANA, PABLO;  
KLEIN, CHRISTIAN y  
NICOLINI, VALERIA G.**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

ES 2 774 380 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

Politerapia de inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a tumor y anticuerpos frente a PD-L1 humano

- 5 La presente invención se refiere a la politerapia de inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a tumor específicas con anticuerpos específicos que se unen a PD-L1 humano.

**Antecedentes de la invención**

- 10 El cáncer es la causa principal de muerte en los países económicamente desarrollados y la segunda causa principal de muerte en los países en desarrollo. A pesar de los recientes avances en la quimioterapia y el desarrollo de agentes dirigidos a nivel molecular para interferir en la transducción y regulación de las señales de crecimiento en las células cancerosas, el pronóstico de los pacientes con cáncer avanzado sigue siendo malo en general. En consecuencia, existe una necesidad médica persistente y urgente de desarrollar nuevos tratamientos que se puedan añadir a los tratamientos existentes para incrementar la supervivencia sin provocar una toxicidad inaceptable.

**Inmunocitocinas de IL-2 y basadas en IL-2 dirigidas a tumor**

- 20 La interleucina 2 (IL-2) es una citocina que activa los linfocitos y los linfocitos citotóxicos naturales (NK). IL-2 ha demostrado que tiene actividad antitumoral; sin embargo, los altos niveles de IL-2 dan lugar a toxicidad pulmonar, y la actividad antitumoral de IL-2 está limitada por una serie de bucles de retroalimentación inhibitoria.

- 25 En base a su eficacia antitumoral, se ha aprobado el tratamiento con IL-2 en altas dosis (aldesleucina, comercializada como Proleukin®) para su uso en pacientes con carcinoma de células renales (CCR) metastásico y melanoma maligno en EE. UU., y para pacientes con CCR metastásico en la Unión Europea. Sin embargo, como consecuencia del modo de acción de IL-2, la aplicación sistémica y no dirigida de IL-2 puede comprometer considerablemente la inmunidad antitumoral por medio de la inducción de linfocitos T<sub>reg</sub> y la AICD. Una preocupación adicional del tratamiento sistémico con IL-2 se relaciona con los graves efectos secundarios tras la administración intravenosa, que incluyen graves acontecimientos cardiovasculares, de edema pulmonar, hepáticos, gastrointestinales (GI), neurológicos y hematológicos (resumen de las características del producto [RCP] para Proleukin (aldesleucina): <http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/19322/SPC/> (consultado el 27 de mayo de 2013)).

- 35 Se han sometido a prueba pautas posológicas con IL-2 en bajas dosis en pacientes, aunque a expensas de resultados terapéuticos subóptimos. En conjunto, los enfoques terapéuticos que utilizan IL-2 pueden ser útiles para el tratamiento del cáncer si se pueden superar los riesgos asociados con su aplicación. Los inmunoconjugados que comprenden un resto de unión a antígeno dirigido a tumor y un resto efector basado en IL-2 se describen, por ejemplo, en los documentos WO 2012/146628 y WO 2012/107417.

**PD-L1 y anticuerpos frente a PD-L1**

- 40 La coestimulación o la provisión de dos señales distintas a los linfocitos T es un modelo ampliamente aceptado de activación linfocitaria de los linfocitos T en reposo por las células presentadoras de antígeno (CPA). Lafferty *et al.*, *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* **53**: 27-42 (1975).

- 45 Este modelo proporciona además la discriminación entre la tolerancia inmunológica propia y no propia. Bretscher *et al.*, *Science* **169**: 1042-1049 (1970); Bretscher, P.A., *P.N.A.S. USA* **96**: 185-190 (1999); Jenkins *et al.*, *J. Exp. Med.* **165**: 302-319 (1987). La señal primaria, o señal específica de antígeno, se transduce a través del receptor de linfocitos T (TCR) después del reconocimiento del péptido del xenoantígeno presentado en el contexto del complejo principal de histocompatibilidad (MHC). La segunda señal o señal coestimuladora se proporciona a los linfocitos T por las moléculas coestimuladoras expresadas en las células presentadoras de antígeno (CPA), e induce que los linfocitos T promuevan la expansión clonal, la secreción de citocinas y la función efectora. Lenschow *et al.*, *Ann. Rev. Immunol.* **14**:233 (1996). En ausencia de coestimulación, los linfocitos T se pueden volver resistentes a la estimulación antigénica, no generar una respuesta inmunitaria eficaz y, además, pueden dar como resultado el agotamiento o la tolerancia a xenoantígenos.

- 50 El modelo de dos señales simple puede ser una simplificación excesiva porque la intensidad de la señal del TCR tiene, en realidad, una influencia cuantitativa sobre la activación y diferenciación de los linfocitos T. Viola *et al.*, *Science* **273**: 104-106 (1996); Sloan-Lancaster, *Nature* **363**: 156-159 (1993). Además, se puede producir la activación de los linfocitos T incluso en ausencia de señal coestimuladora si la intensidad de señal del TCR es alta. Lo más importante, los linfocitos T reciben tanto señales coestimuladoras secundarias positivas como negativas. La regulación de dichas señales positivas y negativas es clave para maximizar las respuestas inmunitarias protectoras del huésped, mientras se mantiene la tolerancia inmunológica y se previene la autoinmunidad.

- 65 Las señales secundarias negativas parecen necesarias para la inducción de la tolerancia de los linfocitos T, mientras que las señales positivas promueven la activación de los linfocitos T. Aunque el modelo de dos señales simple

todavía proporciona una explicación válida para los linfocitos indiferenciados, la respuesta inmunitaria de un huésped es un proceso dinámico, y también se pueden proporcionar señales coestimuladoras a linfocitos T expuestos a antígeno.

5 El mecanismo de coestimulación es de interés terapéutico porque la manipulación de las señales coestimuladoras ha demostrado que proporciona un medio para potenciar o bien terminar la respuesta inmunitaria basada en células. Recientemente se ha descubierto que la disfunción de los linfocitos T o anergia se produce simultáneamente con una expresión inducida y sostenida del receptor inhibitor, el polipéptido de muerte programada 1 (PD-1). Como resultado, el direccionamiento terapéutico de PD-1 y otras moléculas que envían señales a través de interacciones con PD-1, tales como el ligando de muerte programada 1 (PD-L1) y el ligando de muerte programada 2 (PD-L2), son un área de gran interés. Se ha propuesto la inhibición de la señalización por PD-L1 como un medio para potenciar la inmunidad por los linfocitos T para el tratamiento del cáncer (por ejemplo, inmunidad tumoral) y de la infección, incluyendo tanto infección aguda como crónica (por ejemplo, persistente). Sin embargo, puesto que aún no se ha comercializado un tratamiento óptimo dirigido a una diana en esta vía, existe una necesidad médica no satisfecha significativa. Los anticuerpos frente a PD-L1 se describen, por ejemplo, en el documento WO 2010/077634. Pretto *et al.* (Pharmacotherapy of metastatic melanoma: Emerging trends and opportunities for a cure, Pharmacology and Therapeutics, vol. 139, n.º 3, 2013, páginas 405-411) se refiere a tratamientos aprobados y experimentales para el melanoma metastásico usando anticuerpos anti-PD-L1 o conjugados de IL-2. El documento WO2012/107417A1 se refiere, en general, a polipéptidos interleucina-2 mutantes que presentan afinidad reducida con respecto a la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 para su uso como agentes inmunoterápicos. El documento WO2012/146628 se refiere, en general, a inmunoconjugados específicos de antígeno para proporcionar selectivamente restos efectoros que influyen en la actividad celular.

### Sumario de la invención

25 La invención comprende la politerapia de una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso en el tratamiento del cáncer o tumor, para su uso en la prevención o tratamiento de metástasis, para su uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, para su uso en el tratamiento o retraso de la progresión de una enfermedad relacionada con el sistema inmunitario, tal como inmunidad tumoral, o para su uso en la estimulación de una respuesta o función inmunitaria, tal como la actividad de los linfocitos T.

35 La invención comprende el uso de una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor para la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento del cáncer o tumor, para su uso en la prevención o tratamiento de metástasis, para su uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, para su uso en el tratamiento o retraso de la progresión de una enfermedad relacionada con el sistema inmunitario, tal como inmunidad tumoral, o para su uso en la estimulación de una respuesta o función inmunitaria, tal como la actividad de los linfocitos T, en el que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor se administra en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano.

40 La invención comprende el uso de un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento del cáncer o tumor, para su uso en la prevención o tratamiento de metástasis, para su uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, para su uso en el tratamiento o retraso de la progresión de una enfermedad relacionada con el sistema inmunitario, tal como inmunidad tumoral, o para su uso en la estimulación de una respuesta o función inmunitaria, tal como la actividad de los linfocitos T, en el que el anticuerpo que se une a PD-L1 humano se administra en combinación con una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor.

50 La invención se refiere a una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso como una politerapia en el tratamiento del cáncer, para su uso como una politerapia en la prevención o tratamiento de metástasis, para su uso como una politerapia en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, o para su uso como una politerapia en el tratamiento o retraso de la progresión de una enfermedad relacionada con el sistema inmunitario, tal como inmunidad tumoral, en la que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en la politerapia se caracteriza por comprender

- 55 a) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, y SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88, o  
 b) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:108, y SEQ ID NO: 109 y SEQ ID NO:110, o  
 60 c) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, y SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81, o  
 d) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:124, y SEQ ID NO:125 y SEQ ID NO:126,

y el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender

- 65 a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de

SEQ ID NO:92, o

b) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:93, o

c) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:94, o

d) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:95, o

e) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:96, o

f) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:97, o

g) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:98, o

h) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:99, o

i) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 100, o

j) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 101, o

k) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 102, o

l) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 103, o

m) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 104, o

n) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 105, o

o) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 106, o

p) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:91 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 107.

Un modo de realización de la invención se refiere a la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso como se divulga en el presente documento, en el tratamiento del cáncer. Un modo de realización de la invención se refiere a la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso como se divulga en el presente documento, en el tratamiento de cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer ovárico, cáncer de melanoma, cáncer de vejiga, cáncer renal, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de cabeza y cuello, cáncer colorrectal, melanoma, cáncer pancreático, cáncer de carcinoma gástrico, cáncer esofágico, mesotelioma, cáncer de próstata, leucemia, linfomas, mielomas. Un modo de realización de la invención se refiere a la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso como se divulga en el presente documento, en la prevención o tratamiento de metástasis. Un modo de realización de la invención se refiere a la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso como se divulga en el presente documento, en el tratamiento de enfermedades inflamatorias. Un modo de realización de la invención se refiere a la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso como se divulga en el presente documento en el tratamiento o retraso de la progresión de una enfermedad relacionada con el sistema inmunitario, tal como inmunidad tumoral. Un modo de realización de la invención se refiere a una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso en i) la inhibición del crecimiento tumoral en un tumor que expresa la diana de la inmunocitocina; y/o ii) la potenciación de la mediana de la supervivencia y/o supervivencia global de sujetos con

un tumor que expresa la diana de la inmunocitocina; en el que la diana se presenta en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales, en el que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en la politerapia se caracteriza por comprender

- 5 a) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, y SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88, o  
 b) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:108, y SEQ ID NO:109 y SEQ ID NO:110, o  
 c) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, y SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81, o  
 10 d) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:124, y SEQ ID NO:125 y SEQ ID NO:126;  
 y el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender
- 15 a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92, o  
 b) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:93, o  
 20 c) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:94, o  
 d) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:95, o  
 25 e) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:96, o  
 30 f) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:97, o  
 g) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:98, o  
 35 h) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:99, o  
 i) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 100, o  
 40 j) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 101, o  
 45 k) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 102, o  
 l) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 103, o  
 50 m) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 104, o  
 n) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 105, o  
 55 o) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 106, o  
 60 p) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:91 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 107.

Un modo de realización de la invención se refiere a la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso como se describe en el presente documento, en i) la inhibición del crecimiento tumoral en tumores que expresan CEA; y/o ii) la potenciación de la mediana de la supervivencia y/o supervivencia global de sujetos con un tumor que expresa CEA, en el que la

inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor es una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida al antígeno carcinoembrionario (CEA), en el que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA se administra en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano; en el que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA usada en la politerapia se caracteriza por comprender

- 5
- a) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, y SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88, o
  - b) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:108, y SEQ ID NO:109 y SEQ ID NO:110.
- 10
- Un modo de realización de la invención se refiere a la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso como se divulga en el presente documento, en i) la inhibición del crecimiento tumoral en un tumor que expresa FAP; y/o ii) la potenciación de la mediana de la supervivencia y/o supervivencia global de sujetos con un tumor que expresa FAP; en el que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor es una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a la proteína de activación de fibroblastos (FAP), en el que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP usada en la politerapia se caracteriza por comprender
- 15
- a) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, y SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81, o
  - b) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:124, y SEQ ID NO: 125 y SEQ ID NO:126.
- 20
- Un modo de realización de la invención se refiere a la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor, para su uso en el tratamiento de un paciente que tiene un tumor que expresa el antígeno carcinoembrionario (CEA) o un tumor caracterizado por la expresión o sobreexpresión de CEA, que tiene un tumor que expresa la proteína de activación de fibroblastos (FAP) o un tumor caracterizado por la expresión o sobreexpresión de FAP o que tiene un tumor asociado con la expresión o sobreexpresión de CEA o FAP, y en el que la inmunocitocina se administra en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano, en el que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en la politerapia se caracteriza por comprender
- 25
- a) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, y SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88, o
  - b) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:108, y SEQ ID NO:109 y SEQ ID NO:110, o
  - c) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, y SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81, o
  - d) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:124, y SEQ ID NO:125 y SEQ ID NO:126;
- 30
- y el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender
- 35
- a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92, o
  - b) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:93, o
  - c) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:94, o
  - d) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:95, o
  - e) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:96, o
  - f) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:97, o
  - g) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:98, o
  - h) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:99, o
  - i) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 100, o
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

j) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 101, o

5 k) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 102, o

l) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 103, o

10 m) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 104, o

15 n) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 105, o

o) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 106, o

20 p) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:91 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 107.

Un modo de realización de la invención se refiere a la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano como se describe en el presente documento, en el que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en la politerapia se caracteriza por comprender

25 las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88, o

las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81,

30 y en el que el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender

a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92.

35 Un modo de realización de la invención se refiere a la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso de acuerdo con como se describe en el presente documento, caracterizada por que el componente de anticuerpo de la inmunocitocina y el anticuerpo son de la subclase IgG1 humana o subclase IgG4 humana. Un modo de realización de la invención se refiere a la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso como se describe en el presente documento, caracterizada por que dichos anticuerpos tienen una función efectora reducida o mínima. Un modo de realización de la invención se refiere a la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso como se describe en el presente documento, en el que la función efectora mínima resulta de una mutación en Fc sin efector. Un modo de realización de la invención se refiere a la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso como se describe en el presente documento, en el que la mutación en Fc sin efector es L234A/L235A o L234A/L235A/P329G o N297A o D265A/N297A.

50 Los aspectos de la divulgación se refieren a un procedimiento de tratamiento del cáncer o tumor, un procedimiento de prevención o tratamiento de metástasis, un procedimiento de tratamiento de enfermedades inflamatorias, un procedimiento de tratamiento o retraso de la progresión de una enfermedad relacionada con el sistema inmunitario, tal como inmunidad tumoral, o un procedimiento de estimulación de una respuesta o función inmunitaria, tal como la actividad de los linfocitos T, comprendiendo el procedimiento administrar la politerapia de una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano.

55 La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en la politerapia se caracteriza por comprender

un anticuerpo que se une a un antígeno presentado en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, y

60 un mutante de IL-2, en particular, un mutante de IL-2 humana, que tiene afinidad de unión reducida con respecto a la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 (en comparación con IL-2 natural, por ejemplo, la IL-2 humana mostrada como SEQ ID NO: 2), tal como una IL-2 que comprende:

65 i) una, dos o tres sustituciones aminoacídicas en una, dos o tres posiciones seleccionadas de las posiciones correspondientes a los residuos 42, 45 y 72 de IL-2 humana mostrada como SEQ ID NO:2, por ejemplo, tres

sustituciones en tres posiciones, por ejemplo, las sustituciones aminoacídicas específicas F42A, Y45A y L72G; o

ii) los rasgos característicos como se expone en i) más una sustitución aminoacídica en una posición correspondiente al residuo 3 de IL-2 humana mostrada como SEQ ID NO:2, por ejemplo, la sustitución aminoacídica específica T3A; o

iii) cuatro sustituciones aminoacídicas en las posiciones correspondientes a los residuos 3, 42, 45 y 72 de IL-2 humana mostrada como SEQ ID NO:2, por ejemplo, las sustituciones aminoacídicas específicas T3A, F42A, Y45A y L72G.

La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en la politerapia se caracteriza por comprender

un dominio variable de la cadena pesada y un dominio variable de la cadena ligera de un anticuerpo que se une a un antígeno presentado en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales y un dominio Fc que consiste en dos subunidades y que comprende una modificación que promueve la heterodimerización de dos cadenas de polipéptidos no idénticos, y

un mutante de IL-2, en particular, un mutante de IL-2 humana, que tiene afinidad de unión reducida con respecto a la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 (en comparación con IL-2 natural, por ejemplo, la IL-2 humana mostrada como SEQ ID NO: 2), tal como una IL-2 que comprende:

i) una, dos o tres sustituciones aminoacídicas en una, dos o tres posiciones seleccionadas de las posiciones correspondientes a los residuos 42, 45 y 72 de IL-2 humana mostrada como SEQ ID NO:2, por ejemplo, tres sustituciones en tres posiciones, por ejemplo, las sustituciones aminoacídicas específicas F42A, Y45A y L72G; o

ii) los rasgos característicos como se expone en i) más una sustitución aminoacídica en una posición correspondiente al residuo 3 de IL-2 humana mostrada como SEQ ID NO:2, por ejemplo, la sustitución aminoacídica específica T3A; o

iii) cuatro sustituciones aminoacídicas en las posiciones correspondientes a los residuos 3, 42, 45 y 72 de IL-2 humana mostrada como SEQ ID NO:2, por ejemplo, las sustituciones aminoacídicas específicas T3A, F42A, Y45A y L72G.

El anticuerpo se puede unir al antígeno carcinoembrionario (CEA) o a la proteína de activación de fibroblastos (FAP) como la diana del anticuerpo, de modo que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor sea una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA o una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP, que tiene, por tanto, un componente de anticuerpo anti-CEA o de anticuerpo anti-FAP de la inmunocitocina.

La modificación del dominio Fc que promueve la heterodimerización puede ser una modificación de botón en ojal, que comprende una modificación en botón en una de las subunidades del dominio Fc y una modificación en ojal en la otra de las dos subunidades del dominio Fc, o una modificación que media en los efectos de conducción electrostática, que comprende el reemplazo de uno o más residuos de aminoácido en la interfase de las dos cadenas de polipéptidos por residuos de aminoácido cargados, por ejemplo, una mutación DD (por ejemplo, K392D, K409D; numeración EU) en una subunidad y una mutación KK (por ejemplo, D356K, D399K; numeración EU) en la otra subunidad. Una secuencia ejemplar de una región Fc de IgG1 humana se muestra como SEQ ID NO:1.

La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en la politerapia puede ser una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA que puede comprender

a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:68 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:67, y la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:3; o

b) una secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:84 o SEQ ID NO:86 o SEQ ID NO:88, o

c) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, y SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88, o

d) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:108, y SEQ ID NO:109 y SEQ ID NO:110,

una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP que puede comprender

e) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:42 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:41, y la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:3, o

f) una secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:79 o SEQ ID NO:80 o SEQ ID NO:81, o

g) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, y SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81, o

h) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:124, y SEQ ID NO:125 y SEQ ID NO:126.

El anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender

- 5
- a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92, o
- 10
- b) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:93, o
- c) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:94, o
- 15
- d) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:95, o
- e) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:96, o
- 20
- f) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:97, o
- g) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:98, o
- 25
- h) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:99, o
- 30
- i) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 100, o
- j) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 101, o
- 35
- k) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 102, o
- l) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 103, o
- 40
- m) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 104, o
- 45
- n) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 105, o
- o) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 106, o
- 50
- p) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:91 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 107.
- En aspectos de la divulgación, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en la politerapia es una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA que se caracteriza por comprender
- 55
- a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:68 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:67, y la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:3, o
- 60
- b) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, y SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88, o
- c) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:108, y SEQ ID NO:109 y SEQ ID NO:110,
- o es una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP que se caracteriza por comprender
- 65
- a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:42 y un dominio variable de la cadena ligera VL de

SEQ ID NO:41, y la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:3, o

b) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, y SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81, o

5 c) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:124, y SEQ ID NO:125 y SEQ ID NO:126,

y el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender

10 a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92, o

b) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:93, o

15 c) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:94, o

20 d) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:95, o

e) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:96, o

25 f) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:97, o

g) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:98, o

30 h) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:99, o

35 i) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 100, o

j) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 101, o

40 k) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 102, o

l) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 103, o

45 m) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 104, o

50 n) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 105, o

o) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 106, o

55 p) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:91 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 107.

En un aspecto de la divulgación, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA usada en la politerapia se caracteriza por comprender

60 a) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88;

y el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender

65 a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92.

En un aspecto de la divulgación, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP usada en la politerapia se caracteriza por comprender

a) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, y SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81;

y el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender

b) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92.

En un aspecto de la divulgación, una politerapia de una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano como se describe anteriormente es para su uso en el tratamiento del cáncer o tumor. El cáncer o tumor puede presentar un antígeno en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales. La diana de la politerapia se puede presentar en células tumorales o en el entorno de células tumorales. El cáncer o tumor puede expresar o sobreexpresar CEA o FAP. El tratamiento puede ser de un tumor sólido. El tumor sólido puede expresar o sobreexpresar CEA o FAP. El tratamiento puede ser de un carcinoma. El carcinoma puede expresar o sobreexpresar CEA o FAP. El cáncer se puede seleccionar del grupo que consiste en cáncer colorrectal, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de mama, cáncer pancreático, cáncer de hígado y cáncer gástrico. El cáncer se puede seleccionar del grupo que consiste en cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer gástrico, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de piel, cáncer de hígado, cáncer de riñón, cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer de cerebro y cáncer de músculo esquelético.

En un aspecto de la divulgación, una politerapia de una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano como se describe anteriormente es para su uso en la prevención o tratamiento de metástasis.

En un aspecto de la divulgación, una politerapia de una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano como se describe anteriormente es para su uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

En un aspecto de la divulgación, una politerapia de una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano como se describe anteriormente es para su uso en el tratamiento o retraso de la progresión de una enfermedad relacionada con el sistema inmunitario, tal como inmunidad tumoral.

En un aspecto de la divulgación, una politerapia de una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano como se describe anteriormente es para su uso en la estimulación de una respuesta o función inmunitaria, tal como la actividad de los linfocitos T.

Un aspecto de la divulgación comprende una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor, en el que la inmunocitocina se administra en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano como se describe anteriormente para su uso en

i) la inhibición del crecimiento tumoral en un tumor que expresa la diana de la inmunocitocina;

ii) la potenciación de la mediana de la supervivencia y/o supervivencia global de sujetos con un tumor que expresa la diana de la inmunocitocina,

en el que la diana se puede presentar en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales.

Un aspecto de la divulgación comprende una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA, en el que la inmunocitocina se administra en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso en

i) la inhibición del crecimiento tumoral en tumores que expresan CEA;

ii) la potenciación de la mediana de la supervivencia y/o supervivencia global de sujetos con un tumor que expresa CEA;

en el que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA usada en la politerapia se caracteriza por comprender

a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:68 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:67, y la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:3; o

b) una secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:84 o SEQ ID NO:86 o SEQ ID NO:88, o

c) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, y SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88, o

d) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:108, y SEQ ID NO:109 y SEQ ID NO:110

y el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender

5 a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92, o

b) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:93, o

10 c) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:94, o

15 d) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:95, o

e) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:96, o

20 f) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:97, o

g) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:98, o

25 h) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:99, o

30 i) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 100, o

j) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 101, o

35 k) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 102, o

l) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 103, o

40 m) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 104, o

45 n) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 105, o

o) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 106, o

50 p) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:91 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 107.

La invención comprende una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP, en la que la inmunocitocina se administra en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso en

55 i) la inhibición del crecimiento tumoral en tumores que expresan FAP;

ii) la potenciación de la mediana de la supervivencia y/o supervivencia global de sujetos con un tumor que expresa FAP;

60 en la que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP usada en la politerapia se caracteriza por comprender

a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:42 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:41, y la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:3; o

65 b) una secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:79 o SEQ ID NO:80 o SEQ ID NO:81, o

- c) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, y SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81, o
- d) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:124, y SEQ ID NO:125 y SEQ ID NO:126,
- 5 y el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender
- a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92, o
- 10 b) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:93, o
- c) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:94, o
- 15 d) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:95, o
- e) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:96, o
- 20 f) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:97, o
- 25 g) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:98, o
- h) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:99, o
- 30 i) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 100, o
- 35 j) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 101, o
- k) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 102, o
- 40 l) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 103, o
- m) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 104, o
- 45 n) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 105, o
- o) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 106, o
- 50 p) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:91 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 107.
- 55 La invención comprende una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor, para su uso en el tratamiento de un paciente que tiene un tumor que expresa CEA o un tumor caracterizado por la expresión o sobreexpresión de CEA, que tiene un tumor que expresa FAP o un tumor caracterizado por la expresión o sobreexpresión de FAP o que tiene un tumor asociado con la expresión o sobreexpresión de CEA o FAP, y en la que la inmunocitocina se administra en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano,
- 60 en la que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en la politerapia se caracteriza por comprender
- a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:68 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:67, y la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:3, o
- 65

- b) una secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:84 o SEQ ID NO:86 o SEQ ID NO:88, o
- 5 c) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, y SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88, o
- d) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:108, y SEQ ID NO:109 y SEQ ID NO:110, o
- e) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:42 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:41, y la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:3, o
- 10 f) una secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:79 o SEQ ID NO:80 o SEQ ID NO:81, o
- g) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, y SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81, o
- 15 h) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:124, y SEQ ID NO:125 y SEQ ID NO:126,  
y el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender
- a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92, o
- 20 b) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:93, o
- 25 c) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:94, o
- d) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:95, o
- 30 e) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:96, o
- f) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:97, o
- 35 g) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:98, o
- 40 h) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:99, o
- i) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 100, o
- 45 j) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 101, o
- k) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 102, o
- 50 l) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 103, o
- 55 m) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 104, o
- n) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 105, o
- 60 o) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 106, o
- 65 p) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:91 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 107.

En un aspecto de la divulgación, los componentes de anticuerpo de una inmunocitocina o anticuerpos son de la subclase IgG1 humana o subclase IgG4 humana.

Un aspecto de la divulgación se refiere a:

- 5
- A) un procedimiento para
- i) la inhibición del crecimiento tumoral en tumores que expresan CEA o en tumores que expresan FAP;
- 10 ii) la potenciación de la mediana de la supervivencia y/o supervivencia global de sujetos con un tumor que expresa CEA o un tumor que expresa FAP;
- en el que una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA o una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP se administra en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano,
- 15 o
- B) un procedimiento de tratamiento de un paciente que tiene un tumor que expresa CEA o un tumor caracterizado por la expresión o sobreexpresión de CEA, o un tumor que expresa FAP o un tumor caracterizado por la expresión o sobreexpresión de FAP, y en el que una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA o una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP se administra en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano,
- 20 en el que una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA usada en la politerapia se caracteriza por comprender
- 25 a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:68 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:67, y la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:3; o
- b) una secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:84 o SEQ ID NO:86 o SEQ ID NO:88, o
- 30 c) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, y SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88, o
- d) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:108, y SEQ ID NO:109 y SEQ ID NO:110,
- 35 o en el que una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP usada en la politerapia se caracteriza por comprender
- e) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:42 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:41, y la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:3, o
- 40 f) una secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:79 o SEQ ID NO:80 o SEQ ID NO:81, o
- g) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, y SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81, o
- 45 h) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 124, y SEQ ID NO: 125 y SEQ ID NO: 126,
- y el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender
- a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92, o
- 50 b) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:93, o
- 55 c) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:94, o
- d) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:95, o
- 60 e) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:96, o
- 65 f) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:97, o

g) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:98, o

5 h) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:99, o

i) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 100, o

10 j) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 101, o

k) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 102, o

15 l) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 103, o

20 m) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 104, o

n) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 105, o

25 o) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 106, o

p) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:91 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 107.

30 Las politerapias de las inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a tumor y los anticuerpos descritos en el presente documento muestran beneficios para pacientes que necesitan un tratamiento de direccionamiento hacia un antígeno presentado en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales. Las politerapias de las inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a CEA y los anticuerpos descritos en el presente documento muestran beneficios para  
35 pacientes que necesitan un tratamiento de direccionamiento hacia CEA. Las politerapias de las inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a FAP y los anticuerpos descritos en el presente documento muestran beneficios para pacientes que necesitan un tratamiento de direccionamiento hacia FAP. Las inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a tumor de acuerdo con la invención muestran eficacia en la actividad inhibidora del crecimiento tumoral frente a tumores que expresan la diana y son especialmente útiles, entre otros, en el tratamiento del cáncer y metástasis en combinación con los anticuerpos anti-PD-L1 descritos en el presente documento. Las inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a tumor de acuerdo con la invención muestran eficacia en la potenciación de la mediana de la supervivencia y/o supervivencia global de sujetos con un tumor que expresa la diana y son especialmente  
40 útiles, entre otros, en el tratamiento del cáncer y metástasis en combinación con los anticuerpos anti-PD-L1 descritos en el presente documento. Las inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a CEA específicas de acuerdo con la invención muestran eficacia en la actividad inhibidora del crecimiento tumoral frente a tumores que expresan CEA y son especialmente útiles, entre otros, en el tratamiento del cáncer y metástasis en combinación con los anticuerpos anti-PD-L1 específicos descritos en el presente documento. Las inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a CEA específicas de acuerdo con la invención muestran eficacia en la potenciación de la mediana de la supervivencia y/o supervivencia global de sujetos con un tumor que expresa CEA y son especialmente útiles, entre otros, en el  
45 tratamiento del cáncer y metástasis en combinación con los anticuerpos anti-PD-L1 específicos descritos en el presente documento. Las inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a FAP específicas de acuerdo con la invención muestran eficacia en la actividad inhibidora del crecimiento tumoral frente a tumores que expresan FAP y son especialmente útiles, entre otros, en el tratamiento del cáncer y metástasis en combinación con los anticuerpos anti-PD-L1 específicos descritos en el presente documento. Las inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a FAP específicas de acuerdo con la invención muestran eficacia en la potenciación de la mediana de la supervivencia y/o supervivencia global de sujetos con un tumor que expresa FAP y son especialmente útiles, entre otros, en el  
50 tratamiento del cáncer y metástasis en combinación con los anticuerpos anti-PD-L1 específicos descritos en el presente documento. Los anticuerpos específicos que se unen a PD-L1 humano de acuerdo con la invención muestran eficacia en la potenciación de la mediana de la supervivencia y/o supervivencia global de sujetos con un tumor que expresa CEA o un tumor que expresa FAP y son especialmente útiles, entre otros, en el tratamiento del  
55 cáncer y metástasis en combinación con las inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a CEA específicas o inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a FAP, respectivamente, descritas en el presente documento.

**Descripción de las figuras**

65 Fig. 1. Presenta los resultados de un experimento de eficacia con CEA-IL2v y Mab frente a PD-L1 como agentes

individuales y en un contexto de combinación. La línea celular de carcinoma colorrectal transfectante MC38-CEA se inyectó en la vena porta en ratones Black 6 tg para huCEA-hu Fc $\gamma$  RIII para estudiar la supervivencia en un modelo metastásico de hígado. La cantidad de anticuerpos inyectados por ratón en mg/kg se indica en la leyenda de la figura.

- 5
- Fig. 2. Presenta los resultados de un experimento de eficacia con CEA-IL2v y Mab frente a PD-L1 como agentes individuales y en un contexto de combinación. La línea celular de carcinoma colorrectal transfectante MC38-CEA se inyectó por vía subcutánea en ratones Black 6 tg para huCEA-huFc $\gamma$  RIII para estudiar la inhibición del crecimiento tumoral en un modelo subcutáneo, el tamaño del tumor se midió usando un plicómetro. La cantidad de anticuerpos inyectados por ratón en mg/kg se indica en la leyenda de la figura.
- 10
- Fig. 3. Presenta los resultados de un experimento de eficacia con CEA-IL2v y Mab frente a PD-L1 como agentes individuales y en un contexto de combinación. La línea celular de carcinoma pancreático transfectante Panc02-H7-CEA se inyectó en el páncreas en ratones Black 6 tg para huCEA-huFc $\gamma$  RIII para estudiar la supervivencia en un modelo singénico ortotópico pancreático. La cantidad de anticuerpos inyectados por ratón en mg/kg se indica en la leyenda de la figura.
- 15
- Fig. 4. Presenta (A) los resultados de un experimento de eficacia con CEA-IL2v dirigida a CEA y Mab frente a PD-L1 o DP47-IL2v no dirigida y Mab frente a PD-L1 como agentes individuales y en un contexto de combinación. La línea celular de carcinoma pancreático transfectante Panc02-H7-CEA se inyectó en el páncreas en ratones Black 6 tg para huCEA-huFc $\gamma$ RIII para estudiar la supervivencia en un modelo singénico ortotópico pancreático. La cantidad de anticuerpos inyectados por ratón en mg/kg se indica en la leyenda de la figura. (B) Se muestran los niveles en suero de IL2v después de la primera administración para los diferentes grupos de tratamiento.
- 20
- Fig.5. Presenta los resultados de estudios *in vitro* que muestran que en cocultivos de PBMC humana y la línea celular de cáncer de pulmón A549 humana, el tratamiento con CEA-IL2v induce la regulación por incremento de PD-L1 en células A549 de una manera dependiente de la concentración. Se analizó la expresión de PD-L1 en células tumorales A549 por citometría de flujo después del tratamiento con CEA-IL2v 10 nM o 100 nM sola (A) o en presencia de PBMC a una proporción E:D de 1:1 (B) o 10:1 (C).
- 25
- Fig. 6. Presenta los resultados de un experimento de eficacia con FAP-IL2v y Mab frente a PD-L1 como agentes individuales y en un contexto de combinación. La línea celular de carcinoma colorrectal transfectante MC38-FAP se inyectó por vía subcutánea en ratones Black 6 para estudiar la inhibición del crecimiento tumoral en un modelo subcutáneo. (A) tamaño del tumor (medido usando un plicómetro); (B) supervivencia, n = 14.
- 30
- 35

### **Descripción detallada de la invención**

#### **Vía de IL-2**

40

La capacidad de IL-2 de expandir y activar las poblaciones de linfocitos y linfocitos NK tanto *in vitro* como *in vivo* explica los efectos antitumorales de IL-2. Sin embargo, como un mecanismo regulador para prevenir respuestas inmunitarias en exceso y potencial autoinmunidad, IL-2 da lugar a la muerte celular inducida por activación (AICD) y hace que los linfocitos T activados sean susceptibles a la apoptosis mediada por Fas.

45

Además, IL-2 está implicada en el mantenimiento y expansión de los linfocitos T<sub>reg</sub> CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> periféricos (Fontenot JD, Rasmussen JP, Gavin MA, *et al.* A function for interleukin 2 in Foxp3 expressing regulatory T cells. *Nat Immunol.* 2005; 6:1142-1151; D'Cruz LM, Klein L. Development and function of agonist-induced CD25+Foxp3+ regulatory T cells in the absence of interleukin 2 signaling. *Nat Immunol.* 2005; 6:1152-1159; Maloy KJ, Powrie F. Fueling regulation: IL-2 keeps CD4<sup>+</sup> T<sub>reg</sub> cells fit. *Nat Immunol.* 2005; 6:1071-1072). Estas células impiden que los linfocitos T efectoros se destruyan a sí mismos o a la diana, a través del contacto célula-célula o bien a través de la liberación de citocinas inmunopresoras, tales como IL-10 o el factor de crecimiento y transformación (TGF)- $\beta$ . La disminución de los linfocitos T<sub>reg</sub> demostró que potenciaba la inmunidad antitumoral inducida por IL-2 (Imai H, Saio M, Nonaka K, *et al.* Depletion of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells enhances interleukin-2-induced antitumor immunity in a mouse model of colon adenocarcinoma. *Cancer Sci.* 2007; 98:416-423).

50

55

IL-2 también desempeña un papel significativo en la diferenciación de los linfocitos T CD8<sup>+</sup> de memoria durante la expansión primaria y secundaria de los linfocitos T CD8<sup>+</sup>. IL-2 parece ser responsable de la expansión y generación óptimas de funciones efectoras tras la exposición antigénica primaria. Durante la fase de contracción de una respuesta inmunitaria donde la mayoría de los linfocitos T CD8<sup>+</sup> específicos de antígeno desaparecen por apoptosis, las señales de IL-2 pueden rescatar a los linfocitos T CD8<sup>+</sup> de la muerte celular y proporcionar un incremento duradero de los linfocitos T CD8<sup>+</sup> de memoria. En la etapa de memoria, las frecuencias de linfocitos T CD8<sup>+</sup> se pueden incrementar por administración de IL-2 exógena. Además, solo los linfocitos T CD8<sup>+</sup> que han recibido señales de IL-2 durante la activación inicial pueden mediar en la expansión secundaria eficaz tras una exposición antigénica renovada. Por tanto, las señales de IL-2 durante las diferentes fases de una respuesta inmunitaria son clave en la optimización de las funciones de los linfocitos T CD8<sup>+</sup>, afectando, de este modo, tanto a las respuestas

primarias como secundarias de estos linfocitos T (Adv Exp Med Biol. 2010;684:28-41. The role of interleukin-2 in memory CD8 cell differentiation. Boyman O1, Cho JH, Sprent J).

5 En base a su eficacia antitumoral, se ha aprobado el tratamiento con IL-2 en altas dosis (aldesleucina, comercializada como Proleukin®) para su uso en pacientes con carcinoma de células renales (CCR) metastásico y melanoma maligno en EE. UU., y para pacientes con CCR metastásico en la Unión Europea. Sin embargo, como consecuencia del modo de acción de IL-2, la aplicación sistémica y no dirigida de IL-2 puede comprometer considerablemente la inmunidad antitumoral por medio de la inducción de linfocitos T<sub>reg</sub> y la AICD. Una preocupación adicional del tratamiento sistémico con IL-2 se relaciona con los graves efectos secundarios tras la administración intravenosa, que incluyen graves acontecimientos cardiovasculares, de edema pulmonar, hepáticos, gastrointestinales (GI), neurológicos y hematológicos (resumen de las características del producto [RCP] para Proleukin (aldesleucina): <http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/19322/SPC/> (consultado el 27 de mayo de 2013)). Se han sometido a prueba pautas posológicas con IL-2 en bajas dosis en pacientes, aunque a expensas de resultados terapéuticos subóptimos. En conjunto, los enfoques terapéuticos que utilizan IL-2 pueden ser útiles para el tratamiento del cáncer si se pueden superar los riesgos asociados con su aplicación.

20 Se describen inmunoconjugados que comprenden un resto de unión a antígeno dirigido a tumor, por ejemplo, dirigido frente a un antígeno presentado en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales, incluyendo el antígeno carcinoembrionario (CEA) y la proteína de activación de fibroblastos (FAP), y un resto efector basado en IL-2, por ejemplo, que incluye una IL-2 mutante, por ejemplo, en los documentos WO 2012/146628 y WO 2012/107417.

25 En particular, se ha diseñado IL-2 mutante (por ejemplo, un mutante cuádruple conocido como IL-2 qm) para superar las limitaciones de IL-2 natural (por ejemplo, aldesleucina) o inmunocitocinas basadas en IL-2 de primera generación eliminando la unión a la subunidad α de IL-2R (CD25). Este mutante IL-2 qm se ha acoplado a diversos anticuerpos de direccionamiento hacia el tumor, tal como un anticuerpo humanizado dirigido frente a CEA y un anticuerpo dirigido frente a FAP. Además, la región Fc del anticuerpo se ha modificado para prevenir la unión a los receptores Fcγ y al complejo C1q. Las inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a tumor resultantes (por ejemplo, inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA e inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP) han demostrado, en experimentos no clínicos *in vitro* e *in vivo*, que pueden eliminar células tumorales.

Por tanto, las inmunocitocinas resultantes representan una clase de inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a tumor que hacen frente a los riesgos de IL-2 eliminando la unión a la subunidad α de IL-2R (CD25):

35 **Propiedades de IL-2 natural y la variante de IL-2**

	IL-2	IL2v con unión a CD25 eliminada
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Activación del heterodímero IL-2Rβγ e IL-2Rαβγ en células efectoras</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Activación del heterodímero IL-2Rβγ en células efectoras</li> </ul>
<b>Ventaja</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sensibilidad reducida a la inducción de la apoptosis mediada por Fas (también denominada AICD)</li> <li>• Sin estimulación preferencial de linfocitos T<sub>reg</sub></li> <li>• Sin unión a CD25 en el endotelio pulmonar</li> <li>• Farmacocinética y direccionamiento superiores (carencia de depleción de CD25)</li> </ul>
<b>Desventaja</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fuga vascular (unión a CD25 en el endotelio pulmonar)</li> <li>• AICD</li> <li>• Estimulación preferencial de linfocitos T<sub>reg</sub></li> </ul>	

40 El término "IL-2" o "IL-2 humana" se refiere a la proteína IL-2 humana, incluyendo la natural y las variantes que comprenden una o más mutaciones en la secuencia de aminoácidos de IL-2 natural, por ejemplo, como se muestra en la SEQ ID NO:2, que tiene una sustitución C125A para evitar la formación de dímeros de IL-2 con puentes disulfuro. También se puede mutar IL-2 para retirar los sitios de N- y/u O-glucosilación.

45 El término "CEA" se refiere al antígeno carcinoembriogénico, incluyendo sus epítomos inmunógenos CAP-1 y CAP-2, una proteína que está altamente expresada en la superficie celular de diversos tipos de tumores.

El término "FAP" se refiere a la proteína de activación de fibroblastos, una proteína expresada en la superficie celular y presentada en una célula tumoral de diversos tipos de tumores o en un entorno de células tumorales de diversos tipos de tumores.

50 **Vía de PD-1/PD-L1/PD-L2**

Una señal coestimuladora negativa importante que regula la activación de los linfocitos T se proporciona por el receptor de muerte programada 1 (PD-1) (CD279), y sus compañeros de unión a ligando PD-L1 (B7-H1, CD274; SEQ ID NO: 88) y PD-L2 (B7-DC, CD273). Se reveló el papel regulador negativo de PD-1 por los modelos inactivados para PD-1 (*Pdcd1*<sup>-/-</sup>), que son propensos a la autoinmunidad. Nishimura *et al.*, *Immunity* 11: 141-51 (1999); Nishimura *et al.*, *Science* 291: 319-22 (2001). PD-1 se relaciona con CD28 y CTLA-4, pero carece de la cisteína proximal a membrana que permite la homodimerización. El dominio citoplásmico de PD-1 contiene un motivo de inhibición del inmunorreceptor basado en tirosina (ITIM, V/IxYxxL/V). PD-1 solo se une a PD-L1 y PD-L2. Freeman *et al.*, *J. Exp. Med.* 192: 1-9 (2000); Dong *et al.*, *Nature Med.* 5: 1365-1369 (1999); Latchman *et al.*, *Nature Immunol.* 2: 261-268 (2001); Tseng *et al.*, *J. Exp. Med.* 193: 839-846 (2001).

PD-1 se puede expresar en linfocitos T, linfocitos B, linfocitos T citolíticos naturales, monocitos y células dendríticas (DC) activados. PD-1 se expresa por linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup>, linfocitos B y células mieloides humanos activados, pero no estimulados. Esto se contrapone con la expresión más restringida de CD28 y CTLA-4. Nishimura *et al.*, *Int. Immunol.* 8: 773-80 (1996); Boettler *et al.*, *J. Virol.* 80: 3532-40 (2006). Existen al menos 4 variantes de PD-1 que se han clonado a partir de linfocitos T humanos activados, incluyendo transcritos que carecen del (i) exón 2, (ii) exón 3, (iii) exones 2 y 3 o (iv) exones 2 a 4. Nielsen *et al.*, *Cell. Immunol.* 235: 109-16 (2005). Con la excepción de  $\Delta$ ex3 en PD-1, todas las variantes se expresan a niveles similares como PD-1 de longitud completa en células mononucleares de sangre periférica en (PBMC) en reposo. La expresión de todas las variantes se induce significativamente tras la activación de los linfocitos T humanos con anti-CD3 y anti-CD28. Las variantes  $\Delta$ ex3 en PD-1 carecen de un dominio transmembranario y se asemejan a CTLA-4 soluble, que desempeña un papel importante en la autoinmunidad. Ueda *et al.*, *Nature* 423: 506-11 (2003). Esta variante se enriquece en el líquido sinovial y los sueros de pacientes con artritis reumatoide. Wan *et al.*, *J. Immunol.* 177: 8844-50 (2006).

Los dos ligandos de PD-1 difieren en sus patrones de expresión. PD-L1 se expresa constitutivamente en linfocitos T y B de ratón, CD, macrófagos, células madre mesenquimales y mastocitos derivados de la médula ósea. Yamazaki *et al.*, *J. Immunol.* 169: 5538-45 (2002). PD-L1 se expresa en una amplia gama de células no hematopoyéticas (por ejemplo, córnea, pulmón, epitelio vascular, células no parenquimales hepáticas, células madre mesenquimales, islotes pancreáticos, sincitiotrofblastos placentarios, queratinocitos, etc.) [Keir *et al.*, *Annu. Rev. Immunol.* 26: 677-704 (2008)], y se regula por incremento en una serie de tipos de células después de su activación. Tanto los interferones de tipo I como de tipo II (IFN) regulan por incremento PD-L1. Eppihimer *et al.*, *Microcirculation* 9: 133-45 (2002); Schreiner *et al.*, *J. Neuroimmunol.* 155: 172-82 (2004). La expresión de PD-L1 en líneas celulares disminuye cuando se inhiben MyD88, TRAF6 y MEK. Liu *et al.*, *Blood* 110: 296-304 (2007). JAK2 también se ha implicado en la inducción de PD-L1. Lee *et al.*, *FEBS Lett.* 580: 755-62 (2006); Liu *et al.*, *Blood* 110: 296-304 (2007). La pérdida o inhibición del homólogo de fosfatasa y tensina (PTEN), una fosfatasa celular que modificó la fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K) y la señalización de Akt, incrementó la expresión de PD-L1 postranscripcional en cánceres. Parsa *et al.*, *Nat. Med.* 13: 84-88 (2007).

La expresión de PD-L2 está más restringida que la de PD-L1. PD-L2 se expresa de forma inducible en DC, macrófagos y mastocitos derivados de la médula ósea. PD-L2 también se expresa en aproximadamente la mitad o dos tercios de los linfocitos B1 peritoneales en reposo, pero no en los linfocitos B B2 convencionales. Zhong *et al.*, *Eur. J. Immunol.* 37: 2405-10 (2007). Los linfocitos B1 PD-L2<sup>+</sup> se unen a fosfatidilcolina y pueden ser importantes para las respuestas inmunitarias innatas frente a los antígenos bacterianos. La inducción de PD-L2 por IFN-gamma depende parcialmente de NF- $\kappa$ B. Liang *et al.*, *Eur. J. Immunol.* 33: 2706-16 (2003). También se puede inducir PD-L2 en monocitos y macrófagos por GM-CSF, IL-4 e IFN-gamma. Yamazaki *et al.*, *J. Immunol.* 169: 5538-45 (2002); Loke *et al.*, *PNAS* 100:5336-41 (2003).

La señalización por PD-1 típicamente tiene un mayor efecto sobre la producción de citocinas que sobre la proliferación celular, con efectos significativos sobre la producción de IFN-gamma, TNF-alfa e IL-2. La señalización inhibidora mediada por PD-1 también depende de la intensidad de la señalización por el TCR, con una mayor inhibición proporcionada a bajos niveles de estimulación del TCR. Esta reducción se puede superar por coestimulación a través de CD28 [Freeman *et al.*, *J. Exp. Med.* 192: 1027-34 (2000)] o la presencia de IL-2 [Carter *et al.*, *Eur. J. Immunol.* 32: 634-43 (2002)].

Se está acumulando evidencia de que la señalización a través de PD-L1 y PD-L2 pueda ser bidireccional. Es decir, además de modificar la señalización por el TCR o BCR, la señalización también se puede proporcionar de vuelta a las células que expresan PD-L1 y PD-L2. Aunque no se encontró que el tratamiento de células dendríticas con un anticuerpo anti-PD-L2 humano aislado naturalmente de un paciente con macroglobulinemia de Waldenström regulaba por incremento las moléculas coestimuladoras de MHC II o B7, dichas células produjeron una mayor cantidad de citocinas proinflamatorias, en particular, TNF-alfa e IL-6, y estimularon la proliferación de linfocitos T. Nguyen *et al.*, *J. Exp. Med.* 196: 1393-98 (2002). El tratamiento de ratones con este anticuerpo también (1) potenció la resistencia al melanoma b16 trasplantado y rápidamente indujo CTL específicos de tumor. Radhakrishnan *et al.*, *J. Immunol.* 170: 1830-38 (2003); Radhakrishnan *et al.*, *Cancer Res.* 64: 4965-72 (2004); Heckman *et al.*, *Eur. J. Immunol.* 37: 1827-35 (2007); (2) bloqueó el desarrollo de la enfermedad inflamatoria de las vías respiratorias en un modelo de ratón con asma alérgica. Radhakrishnan *et al.*, *J. Immunol.* 173: 1360-65 (2004); Radhakrishnan *et al.*, *J. Allergy Clin. Immunol.* 116: 668-74 (2005).

Otra evidencia de señalización inversa en células dendríticas ("DC") resulta de estudios de DC derivadas de médula ósea cultivadas con PD-1 soluble (dominio EC de PD-1 fusionado a la región constante de Ig - "s-PD-1"). Kuipers *et al.*, Eur. J. Immunol. 36: 2472-82 (2006). Este sPD-1 inhibió la activación de DC e incrementó la producción de IL-10 de una manera reversible a través de la administración de anti-PD-1.

Adicionalmente, varios estudios muestran un receptor para PD-L1 o PD-L2 que es independiente de PD-1. Ya se ha identificado B7.1 como un compañero de unión para PD-L1. Butte *et al.*, Immunity 27: 111-22 (2007). Los estudios de reticulación química sugieren que PD-L1 y B7.1 pueden interactuar a través de sus dominios similares a IgV. Las interacciones B7.1:PD-L1 pueden inducir una señal inhibitoria en los linfocitos T. La fijación de PD-L1 en linfocitos T CD4+ por B7.1 o la fijación de B7.1 en linfocitos T CD4+ por PD-L1 proporciona una señal inhibitoria. Los linfocitos T que carecen de CD28 y CTLA-4 muestran proliferación y producción de citocinas disminuidas cuando se estimulan por microesferas recubiertas con anti-CD3 más B7.1. En los linfocitos T que carecen de todos los receptores para B7.1 (es decir, CD28, CTLA-4 y PD-L1), la proliferación de linfocitos T y la producción de citocinas ya no se inhibieron por las microesferas recubiertas con anti-CD3 más B7.1. Esto indica que B7.1 actúa específicamente a través de PD-L1 sobre el linfocito T en ausencia de CD28 y CTLA-4. De forma similar, los linfocitos T que carecen de PD-1 mostraron proliferación y producción de citocinas disminuidas cuando se estimulan en presencia de microesferas recubiertas con anti-CD3 más PD-L1, lo que demuestra el efecto inhibitorio de la fijación de PD-L1 en B7.1 en los linfocitos T. Cuando los linfocitos T carecen de todos los receptores conocidos para PD-L1 (es decir, ni PD-1 ni B7.1), la proliferación de linfocitos T ya no se vio afectada por las microesferas recubiertas con anti-CD3 más PD-L1. Por tanto, PD-L1 puede ejercer un efecto inhibitorio sobre los linfocitos T a través de B7.1 o bien PD-1.

La interacción directa entre B7.1 y PD-L1 sugiere que el entendimiento actual de la coestimulación está incompleto y subraya la importancia para la expresión de estas moléculas en los linfocitos T. Los estudios de linfocitos T PD-L1/- indican que PD-L1 en los linfocitos T puede regular por disminución la producción de citocinas por los linfocitos T. Latchman *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101: 10691-96 (2004). Debido a que tanto PD-L1 como B7.1 se expresan en los linfocitos T, linfocitos B, DC y macrófagos, existe un potencial de interacciones direccionales entre B7.1 y PD-L1 en estos tipos de células. Adicionalmente, PD-L1 en células no hematopoyéticas puede interactuar con B7.1 así como con PD-1 en los linfocitos T, lo que plantea la cuestión de si PD-L1 está implicado en su regulación. Una posible explicación del efecto inhibitorio de la interacción B7.1:PD-L1 es que el linfocito T PD-L1 puede atrapar o segregar B7.1 en CPA a partir de la interacción con CD28.

Como resultado, el antagonismo de la señalización a través de PD-L1, incluyendo el bloqueo de que PD-L1 interactúe con PD-1, B7.1 o bien ambos, previniendo, de este modo, que PD-L1 envíe una señal coestimuladora negativa a los linfocitos T y otras células presentadoras de antígeno, es probable que potencie la inmunidad en respuesta a la infección (por ejemplo, aguda y crónica) y la inmunidad tumoral. Además, los anticuerpos anti-PD-L1 de la presente invención se pueden combinar con antagonistas de otros componentes de señalización por PD-1:PD-L1, por ejemplo, anticuerpos anti-PD-1 y anti-PD-L2 antagonistas.

El término "PD-L1 humano" se refiere a la proteína humana PD-L1 (SEQ ID NO:4, típicamente señalización por PD-1). Como se usa en el presente documento, "se une a PD-L1 humano" o "se une específicamente a PD-L1 humano" o "que se une a PD-L1 humano" o "anticuerpo anti-PD-L1" se refiere a un anticuerpo que se une específicamente al antígeno PD-L1 humano con una afinidad de unión del valor de KD de  $1,0 \times 10^{-8}$  mol/l o menor, en un modo de realización de un valor de KD de  $1,0 \times 10^{-9}$  mol/l o menor. La afinidad de unión se determina con un ensayo de unión estándar, tal como la técnica de resonancia de plasmón superficial (BIAcore®, GE-Healthcare Uppsala, Suecia). Por tanto, un "anticuerpo que se une a PD-L1 humano" como se usa en el presente documento se refiere a un anticuerpo que se une específicamente al antígeno PD-L1 humano con una afinidad de unión de KD de  $1,0 \times 10^{-8}$  mol/l o menor (en un modo de realización de  $1,0 \times 10^{-8}$  mol/l -  $1,0 \times 10^{-13}$  mol/l), en un modo de realización de una KD de  $1,0 \times 10^{-9}$  mol/l o menor (en un modo de realización de  $1,0 \times 10^{-9}$  mol/l -  $1,0 \times 10^{-13}$  mol/l).

Como se describe en detalle en el presente documento, los inventores han descubierto que la IL-2 mutante dirigida a tumor proporciona efectos terapéuticos superiores *in vivo* cuando se usa en combinación con antagonistas de la vía de PD-1/PD-L1. En particular, los inventores han descubierto que la IL-2 mutante dirigida a tumor, tal como una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA (denominada CEA-IL2v o IgG-IL-2 qm dirigida a CEA) o una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP (denominada FAP-IL2v o IgG-IL-2 qm dirigida a FAP), proporciona efectos terapéuticos superiores *in vivo* cuando se usa en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano.

La capacidad de IL-2 de expandir y activar los linfocitos y los linfocitos citotóxicos naturales (NK) subyace a la actividad antitumoral de IL-2. Los mutantes de IL-2 diseñados para eliminar la unión de IL-2 a la subunidad  $\alpha$  de IL-2 (CD25) superan las limitaciones de IL-2 y, como parte de una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor, tal como una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA o una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP han demostrado que pueden eliminar células tumorales.

Los inventores han descubierto que, como se describe en el presente documento, el tratamiento *in vitro* con una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor induce la regulación por incremento de PD-L1 en células

tumorales. Por ejemplo, los cocultivos de PBMC humana y la línea celular de cáncer de pulmón A549 humana mostraron que una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA induce la regulación por incremento de PD-L1 en células A549 de una manera dependiente de la concentración, lo más probablemente mediada a través de la liberación de IFN $\gamma$ . Usando la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA, denominada "CEA-IL2v" (correspondiente a la proteína de fusión IgG-IL-2 qm dirigida a CEA basada en el anticuerpo anti-CEA CH1A1A 98/99 2F1 y el mutante cuádruple de IL-2 (IL-2 qm, SEQ ID NO:3), que tiene las secuencias mostradas como SEQ ID NO: 84, 86 y 88 descritas en el documento WO 2012/146628, ejemplos 1 y 2), CEA-IL2v, por sí sola no pudo inducir PD-L1 en células tumorales A549 (figura 4). Sin embargo, en presencia de PBMC, se reguló por incremento PD-L1 en células A549, lo que indicó que el efecto se medió por medio de células inmunitarias, lo más probablemente mediado a través de la liberación de IFN $\gamma$ . El nivel de expresión de PD-L1 se incrementó con la concentración creciente de CEA-IL2v, así como con una proporción E:D mayor. Se sabe que la regulación por incremento de PD-L1 influye negativamente en la actividad de los linfocitos NK y T por medio de su interacción con PD-1. Por lo tanto, este bucle de retroalimentación negativa se podría suprimir por adición de anticuerpo de bloqueo de PD-L1.

Los inventores han descubierto además que, como se describe en el presente documento, el tratamiento *in vivo* con una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor y la inhibición de PD-L1 daba como resultado i) una inhibición del crecimiento tumoral superior en comparación con los tratamientos con agentes individuales respectivos en modelos singénicos de líneas celulares de tumor de ratón y ii) una mediana de la supervivencia y/o supervivencia global combinada superior en modelos singénicos de líneas celulares de tumor de ratón, en particular, cuando se aplican de forma concurrente. Se inició una serie de estudios preclínicos para evaluar la eficacia antitumoral *in vivo* de la combinación de una molécula sustituta murinizada de una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor con un anticuerpo sustituto anti-PD-L1 de ratón. Por ejemplo, se iniciaron estudios preclínicos para evaluar la eficacia antitumoral *in vivo* de la combinación de una molécula sustituta murinizada de la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA CEA-IL2v (denominada muCEA-muIL2v) de una molécula sustituta murinizada de la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP FAP-IL2v (denominada muFAP-muIL2v) con un anticuerpo sustituto anti-PD-L1 de ratón (por ejemplo, muIgG1 frente a PD-L1 YW243.55.S70 como se describe en el documento WO 2010/077634 con las secuencias mostradas en la figura 11, que contiene una mutación DAPG para anular la interacción con Fc $\gamma$ R, o un anticuerpo anti-PD-L1 de reacción cruzada humano/de ratón).

### **Inmunocitocinas y anticuerpos**

La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en la politerapia descrita en el presente documento comprende

un anticuerpo que se une a un antígeno presentado en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, y

un mutante de IL-2, en particular, un mutante de IL-2 humana, que tiene afinidad de unión reducida con respecto a la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 (en comparación con IL-2 natural, por ejemplo, la IL-2 humana mostrada como SEQ ID NO: 2), tal como una IL-2 que comprende:

iv) una, dos o tres sustituciones aminoacídicas en una, dos o tres posiciones seleccionadas de las posiciones correspondientes a los residuos 42, 45 y 72 de IL-2 humana mostrada como SEQ ID NO:2, por ejemplo, tres sustituciones en tres posiciones, por ejemplo, las sustituciones aminoacídicas específicas F42A, Y45A y L72G; o

v) los rasgos característicos como se expone en i) más una sustitución aminoacídica en una posición correspondiente al residuo 3 de IL-2 humana mostrada como SEQ ID NO:2, por ejemplo, la sustitución aminoacídica específica T3A; o

vi) cuatro sustituciones aminoacídicas en las posiciones correspondientes a los residuos 3, 42, 45 y 72 de IL-2 humana mostrada como SEQ ID NO:2, por ejemplo, las sustituciones aminoacídicas específicas T3A, F42A, Y45A y L72G.

La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en la politerapia descrita en el presente documento puede comprender

un dominio variable de la cadena pesada y un dominio variable de la cadena ligera de un anticuerpo que se une a un antígeno presentado en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales y un dominio Fc que consiste en dos subunidades y que comprende una modificación que promueve la heterodimerización de dos cadenas de polipéptidos no idénticos, y

un mutante de IL-2, en particular, un mutante de IL-2 humana, que tiene afinidad de unión reducida con respecto a la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 (en comparación con IL-2 natural, por ejemplo, la IL-2 humana mostrada como SEQ ID NO: 2), tal como una IL-2 que comprende:

iv) una, dos o tres sustituciones aminoacídicas en una, dos o tres posiciones seleccionadas de las posiciones correspondientes a los residuos 42, 45 y 72 de IL-2 humana mostrada como SEQ ID NO:2, por ejemplo, tres sustituciones en tres posiciones, por ejemplo, las sustituciones aminoacídicas específicas F42A, Y45A y L72G; o

5 v) los rasgos característicos como se expone en i) más una sustitución aminoacídica en una posición correspondiente al residuo 3 de IL-2 humana mostrada como SEQ ID NO:2, por ejemplo, la sustitución aminoacídica específica T3A; o

10 vi) cuatro sustituciones aminoacídicas en las posiciones correspondientes a los residuos 3, 42, 45 y 72 de IL-2 humana mostrada como SEQ ID NO:2, por ejemplo, las sustituciones aminoacídicas específicas T3A, F42A, Y45A y L72G.

Una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA usada en la politerapia puede comprender

15 a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:68 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:67, y la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:3; o

b) una secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:84 o SEQ ID NO:86 o SEQ ID NO:88, o

20 c) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, y SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88, o

d) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 108, y SEQ ID NO: 109 y SEQ ID NO: 110.

25 En algunos aspectos de la divulgación, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA usada en la politerapia comprende las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88.

Una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP usada en la politerapia puede comprender

30 a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:42 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:41, y la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:3, o

b) una secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:79 o SEQ ID NO:80 o SEQ ID NO:81, o

35 c) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, y SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81, o

d) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 124, y SEQ ID NO: 125 y SEQ ID NO: 126.

40 En algún aspecto de las divulgaciones, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP usada en la politerapia comprende las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, y SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81.

45 Estas inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a tumor, junto con sus partes componentes de restos de unión a antígeno, dominios Fc y restos efectores, se describen como ejemplos de los inmunoconjugados descritos en los documentos WO 2012/146628 y WO 2012/107417. Por ejemplo, se describen las inmunocitocinas particulares 'proteína de fusión IgG-IL-2 qm dirigida a CEA' basadas en el anticuerpo anti-CEA CH1A1A 98/99 2F1 y el mutante cuádruple de IL-2 (qm) (SEQ ID NO:3), que tienen las secuencias mostradas como SEQ ID NO: 84 y 86 y 88, por ejemplo, en los ejemplos 1 y 2 del documento WO 2012/146628. Por ejemplo, se describen las inmunocitocinas particulares 'proteína de fusión IgG-IL-2 qm dirigida a FAP' basadas en el anticuerpo anti-FAP 4B9 y el mutante cuádruple de IL-2 (IL-2 qm, SEQ ID NO:3), que tienen las secuencias mostradas como SEQ ID NO: 79 y 80 y 81, por ejemplo, en los ejemplos 1 y 2 del documento WO 2012/146628 y en el ejemplo 1 del documento WO 2012/107417.

50 Las inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a CEA particulares descritas en el documento WO 2012/146628 se caracterizan por comprender las siguientes secuencias de polipéptidos como se describe en el presente documento:

mutante de IL-2	secuencia de aminoácidos, SEQ ID NO:
IL-2 qm	3

anticuerpo anti-CEA	secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada VH, SEQ ID NO:	secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena ligera VL, SEQ ID NO:
CH1A1A 98/99 2F1	68	67

55

inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA	secuencia de aminoácidos de la cadena pesada, SEQ ID NO:	secuencia de aminoácidos de la cadena ligera, SEQ ID NO:
---	--	--

IgG CH1A1A 98/99 2F1-IL-2 qm	84 y 86	88
------------------------------	---------	----

Las inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a FAP particulares descritas en los documentos WO 2012/146628 y WO 2012/107417 se caracterizan por comprender las siguientes secuencias de polipéptidos como se describe en el presente documento:

5

mutante de IL-2	secuencia de aminoácidos, SEQ ID NO:
IL-2 qm	3

anticuerpo anti-FAP	secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada VH, SEQ ID NO:	secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena ligera VL, SEQ ID NO:
4B9	42	41
3F2	7	6
4G8	12	11
28H1	58	57

inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP	secuencia de aminoácidos de la cadena pesada, SEQ ID NO:	secuencia de aminoácidos de la cadena ligera, SEQ ID NO:
IgG 4B9-IL-2 qm	79 y 80	81

10 Como se describe en el documento WO 2012/146628, un mutante de IL-2 tiene afinidad de unión reducida con respecto a la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2. Conjuntamente con las subunidades  $\beta$  y  $\gamma$  (también conocidas como CD122 y CD132, respectivamente), la subunidad  $\alpha$  (también conocida como CD25) forma el receptor de IL-2 de alta afinidad heterotrimérico, mientras que el receptor dimérico que consiste solo en las subunidades  $\beta$  y  $\gamma$  se denomina receptor de IL-2 de afinidad intermedia. Como se describe en el documento WO 2012/146628, un polipéptido mutante de IL-2 con unión reducida a la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 tiene una capacidad reducida de inducir la señalización de IL-2 en linfocitos T reguladores, induce menos muerte celular inducida por activación (AICD) en los linfocitos T, y tiene un perfil de toxicidad reducida *in vivo*, en comparación con un polipéptido IL-2 natural. El uso de dicho mutante de IL-2 con toxicidad reducida es, en particular, ventajoso en inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a tumor, que tienen una larga semivida en suero debido a la presencia de un dominio Fc. El mutante de IL-2 puede comprender al menos una mutación aminoacídica que reduce o anula la afinidad del mutante de IL-2 a la subunidad  $\alpha$  del receptor de IL-2 (CD25), pero conserva la afinidad del mutante de IL-2 al receptor de IL-2 de afinidad intermedia (que consiste en las subunidades  $\beta$  y  $\gamma$  del receptor de IL-2), en comparación con IL-2 natural. La una o más mutaciones aminoacídicas pueden ser sustituciones aminoacídicas. El mutante de IL-2 puede comprender una, dos o tres sustituciones aminoacídicas en una, dos o tres posiciones seleccionadas de las posiciones correspondientes a los residuos 42, 45 y 72 de IL-2 humana (mostrada como SEQ ID NO:2). El mutante de IL-2 puede comprender tres sustituciones aminoacídicas en las posiciones correspondientes a los residuos 42, 45 y 72 de IL-2 humana. El mutante de IL-2 puede ser un mutante de IL-2 humana. El mutante de IL-2 puede ser IL-2 humana que comprenda las sustituciones aminoacídicas F42A, Y45A y L72G. El mutante de IL-2 puede comprender adicionalmente una mutación aminoacídica en una posición correspondiente a la posición 3 de IL-2 humana, que elimina el sitio de O-glucosilación de IL-2. En particular, dicha mutación aminoacídica adicional es una sustitución aminoacídica que reemplaza un residuo de treonina por un residuo de alanina. Un mutante de IL-2 particular útil en la invención comprende cuatro sustituciones aminoacídicas en las posiciones correspondientes a los residuos 3, 42, 45 y 72 de IL-2 humana (mostrada como SEQ ID NO:2). Las sustituciones aminoacídicas específicas son T3A, F42A, Y45A y L72G. Como se demuestra en los ejemplos del documento WO 2012/146628, dicho polipéptido IL-2 mutante cuádruple (IL-2 qm) no presenta ninguna unión detectable a CD25, capacidad reducida de inducir la apoptosis en linfocitos T, capacidad reducida de inducir la señalización de IL-2 en linfocitos T<sub>reg</sub> y un perfil de toxicidad reducida *in vivo*. Sin embargo, retiene la capacidad de activar la señalización de IL-2 en células efectoras, de inducir la proliferación de células efectoras y de generar IFN- $\gamma$  como una citocina secundaria por los linfocitos NK. El mutante de IL-2 de acuerdo con cualquiera de las descripciones anteriores puede comprender mutaciones adicionales que proporcionan otras ventajas, tales como expresión o estabilidad incrementada. Por ejemplo, se puede reemplazar la cisteína en la posición 125 por un aminoácido neutro, tal como alanina, para evitar la formación de dímeros de IL-2 con puentes disulfuro. Por tanto, el mutante de IL-2 puede comprender una mutación aminoacídica adicional en una posición correspondiente al residuo 125 de IL-2 humana. Dicha mutación aminoacídica adicional puede ser la sustitución aminoacídica C125A. El mutante de IL-2 puede comprender la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO: 3.

45 Como se describe en los documentos WO 2012/146628 y WO 2012/107417, el direccionamiento hacia el tumor de la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor se puede lograr por direccionamiento hacia un antígeno

presentado en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales. Por tanto, la inmunocitocina tiene un resto de unión a antígeno. El resto de unión a antígeno, en general, es una molécula de polipéptido que se une a un determinante antigénico específico y puede dirigir la entidad a la que se une (por ejemplo, un resto efector y un dominio Fc) a un sitio diana, por ejemplo, a un tipo específico de célula tumoral o estroma tumoral que tiene el determinante antigénico. La inmunocitocina se puede unir a determinantes antigénicos encontrados, por ejemplo, en las superficies de las células tumorales, en las superficies de otras células enfermas, libres en suero sanguíneo y/o en la matriz extracelular (MEC). El resto de unión a antígeno se puede dirigir a un antígeno asociado con una afección patológica, tal como un antígeno presentado en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales o en un sitio de inflamación.

Los ejemplos no limitantes de antígenos tumorales incluyen MAGE, MART-1/melan A, gp100, dipeptidilpeptidasa IV (DPP-IV), proteína de unión a adenosindesaminasa (ADAbp), ciclofilina b, antígeno asociado a cáncer colorrectal (CRC)-C017-1A/GA733, antígeno carcinoembrionario (CEA) y sus epítomos inmunógenos CAP-1 y CAP-2, etv6, aml1, antígeno prostático específico (PSA) y sus epítomos inmunógenos PSA-1, PSA-2 y PSA-3, antígeno de membrana prostático específico (PSMA), antígeno de células madre prostáticas (PSCA), familia MAGE de antígenos tumorales (por ejemplo, MAGE-A1, MAGE-A2, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A5, MAGE-A6, MAGE-A7, MAGE-A8, MAGE-A9, MAGE-A10, MAGE-A11, MAGE-A12, MAGE-Xp2 (MAGE-B2), MAGE-Xp3 (MAGE-B3), MAGE-Xp4 (MAGE-B4), MAGE-C1, MAGE-C2, MAGE-C3, MAGE-C4, MAGE-C5), familia GAGE de antígenos tumorales (por ejemplo, GAGE-1, GAGE-2, GAGE-3, GAGE-4, GAGE-5, GAGE-6, GAGE-7, GAGE-8, GAGE-9), BAGE, RAGE, LAGE-1, NAG, GnT-V, MUM-1, CDK4, tirosinasa, p53, familia MUC, HER2/neu, p21ras, RCAS1,  $\alpha$ -fetoproteína, E-cadherina,  $\alpha$ -catenina,  $\beta$ -catenina y  $\gamma$ -catenina, p120ctn, gp100 Pmel117, PRAME, NY-ESO-1, cdc27, proteína poliposis adenomatosa coli (APC), fodrina, conexina 37, idiotipo de Ig, p15, gp75, gangliósidos GM2 y GD2, productos víricos, tales como proteínas del papilomavirus humano, familia Smad de antígenos tumorales, Imp-1, P1A, antígeno nuclear codificado por EBV (EBNA)-1, glucógeno fosforilasa cerebral, SSX-1, SSX-2 (HOM-MEL-40), SSX-1, SSX-4, SSX-5, SCP-1 y CT-7, y c-erbB-2. Los ejemplos no limitantes de antígenos de la MEC incluyen sindecano, heparanasa, integrinas, osteopontina, proteínas de unión, cadherinas, laminina, EGF de tipo laminina, lectina, fibronectina, Notch, tenascina y matrixina. Los ejemplos no limitantes de antígenos de superficie celular incluyen: FAP, Her2, EGFR, IGF-1R, CD22 (receptor de linfocitos B), CD23 (receptor de IgE de afinidad baja), CD30 (receptor de citocinas), CD33 (antígeno de superficie de células mieloides), CD40 (receptor del factor de necrosis tumoral), IL-6R (receptor de IL6), CD20, MCSP y PDGF $\beta$  R (receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas  $\beta$ ). En aspectos particulares de la divulgación, el antígeno es un antígeno humano.

En determinados aspectos de la divulgación, el resto de unión a antígeno se dirige a un antígeno presentado en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales. En un aspecto específico de la divulgación, el resto de unión a antígeno se dirige a un antígeno seleccionado del grupo de proteína de activación de fibroblastos (FAP) y antígeno carcinoembrionario (CEA). La inmunocitocina puede comprender dos o más restos de unión a antígeno, en la que cada uno de estos restos de unión a antígeno se une específicamente al mismo determinante antigénico.

El resto de unión a antígeno puede ser cualquier tipo de anticuerpo o fragmento del mismo que retenga la unión específica a un determinante antigénico. Los fragmentos de anticuerpo incluyen, pero no se limitan a, fragmentos de  $V_H$ , fragmentos de  $V_L$ , fragmentos Fab, fragmentos  $F(ab')_2$ , fragmentos scFv, fragmentos Fv, minicuerpos, diacuerpos, triacuerpos y tetracuerpos (véase, por ejemplo, Hudson y Souriau, Nature Med 9, 129-134 (2003)). En un aspecto particular de la divulgación, el resto de unión a antígeno es una molécula de Fab. En un aspecto de la divulgación, dicha molécula de Fab es humana. En otro aspecto de la divulgación, se humaniza dicha molécula de Fab. Aún en otro aspecto de la divulgación, dicha molécula de Fab comprende regiones constantes de la cadena pesada y ligera humanas.

En aspectos preferentes de la divulgación, el direccionamiento hacia el tumor de la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor se puede lograr por direccionamiento hacia el antígeno carcinoembriológico (CEA), como se describe en el documento WO 2012/146628. El direccionamiento hacia CEA se puede lograr con un anticuerpo anti-CEA o un fragmento de unión a antígeno del mismo. Un anticuerpo anti-CEA puede comprender una secuencia de la región variable de la cadena pesada que sea al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de SEQ ID NO: 66 o SEQ ID NO: 68, o una variante de la misma que retenga la funcionalidad. Un anticuerpo anti-CEA puede comprender una secuencia de la región variable de la cadena ligera que sea al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de SEQ ID NO: 65 o SEQ ID NO: 67, o una variante de la misma que retenga la funcionalidad. Un anticuerpo anti-CEA puede comprender una secuencia de la región variable de la cadena pesada que sea al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de SEQ ID NO: 66, o una variante de la misma que retenga la funcionalidad, y una secuencia de la región variable de la cadena ligera que sea al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de SEQ ID NO: 65, o una variante de la misma que retenga la funcionalidad. Un anticuerpo anti-CEA puede comprender una secuencia de la región variable de la cadena pesada que sea al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de SEQ ID NO: 68, o una variante de la misma que retenga la funcionalidad, y una secuencia de la región variable de la cadena ligera que sea al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de SEQ ID NO: 67, o una variante de la misma que retenga la funcionalidad. Un anticuerpo

anti-CEA puede comprender la secuencia de la región variable de la cadena pesada de SEQ ID NO: 66 y la secuencia de la región variable de la cadena ligera de SEQ ID NO: 65. Un anticuerpo anti-CEA puede comprender la secuencia de la región variable de la cadena pesada de SEQ ID NO: 68 y la secuencia de la región variable de la cadena ligera de SEQ ID NO: 67.

5 Como se describe en el documento WO 2012/146628, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA puede comprender una secuencia de polipéptidos en la que una cadena pesada de Fab específica para CEA comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación en botón, que, a su vez, comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA puede comprender una secuencia de polipéptidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 82, SEQ ID NO: 83 y SEQ ID NO: 84, o una variante de las mismas que retenga la funcionalidad. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA puede comprender una secuencia de polipéptidos en la que una cadena pesada de Fab específica para CEA comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación en ojal. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA puede comprender la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO: 85 o SEQ ID NO: 86, o una variante de la misma que retenga la funcionalidad. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA puede comprender una cadena ligera de Fab específica para CEA. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA puede comprender la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO: 87 o SEQ ID NO: 88, o una variante de la misma que retenga la funcionalidad. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA puede comprender las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 85, SEQ ID NO: 82 y SEQ ID NO: 87, o variantes de las mismas que retengan la funcionalidad. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA puede comprender las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 86 y SEQ ID NO: 88, o variantes de las mismas que retengan la funcionalidad. Los polipéptidos pueden estar enlazados covalentemente, por ejemplo, por un enlace disulfuro. Las cadenas de polipéptidos del dominio Fc pueden comprender las sustituciones aminoacídicas L234A, L235A y P329G (que se pueden denominar LALA P329G).

Como se describe en el documento WO 2012/146628, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA puede ser una proteína de fusión IgG-IL-2 qm dirigida a CEA basada en el anticuerpo anti-CEA CH1A1A 98/99 2F1 y el mutante cuádruple de IL-2 (IL-2 qm, SEQ ID NO:3), que tiene las secuencias mostradas como SEQ ID NO: 84, 86 y 88 (como se describe, por ejemplo, en los ejemplos 1 y 2 del documento WO 2012/146628). La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA que tiene las secuencias mostradas como SEQ ID NO: 84, 86 y 88 en el presente documento se denomina "CEA-IL2v".

En modos de realización preferentes, el direccionamiento hacia el tumor de la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor se puede lograr por direccionamiento hacia la proteína de activación de fibroblastos (FAP), como se describe en los documentos WO 2012/146628 y WO 2012/107417. El direccionamiento hacia FAP se puede lograr con un anticuerpo anti-FAP o un fragmento de unión a antígeno del mismo. Un anticuerpo anti-FAP puede comprender una secuencia de la región variable de la cadena pesada que sea al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62 y SEQ ID NO: 64, o variantes de las mismas que retengan la funcionalidad. Un anticuerpo anti-FAP puede comprender una secuencia de la región variable de la cadena ligera que sea al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61 y SEQ ID NO: 63, o variantes de las mismas que retengan la funcionalidad. Un anticuerpo anti-FAP puede comprender una secuencia de la región variable de la cadena pesada que sea al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 60, SEQ ID NO: 62 y SEQ ID NO: 64, o variantes de las mismas que retengan la funcionalidad, y una secuencia de la región variable de la cadena ligera que sea al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 47, SEQ ID NO: 49, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 59, SEQ ID NO: 61 y SEQ ID NO: 63, o variantes de las mismas que retengan la funcionalidad. Un anticuerpo anti-FAP puede comprender una secuencia de la región variable de la cadena pesada que sea al menos

aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de SEQ ID NO:42 y una secuencia de la región variable de la cadena ligera que sea al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de SEQ ID NO: 41. Un anticuerpo anti-FAP puede comprender una secuencia de la región variable de la cadena pesada que sea al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de SEQ ID NO:58 y una secuencia de la región variable de la cadena ligera que sea al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de SEQ ID NO: 57. Un anticuerpo anti-FAP puede comprender una secuencia de la región variable de la cadena pesada que sea al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de SEQ ID NO: 12 y una secuencia de la región variable de la cadena ligera que sea al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de SEQ ID NO: 11. Un anticuerpo anti-FAP puede comprender una secuencia de la región variable de la cadena pesada que sea al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de SEQ ID NO:7 y una secuencia de la región variable de la cadena ligera que sea al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % idéntica a la secuencia de SEQ ID NO: 6. Un anticuerpo anti-FAP puede comprender la secuencia de la región variable de la cadena pesada de SEQ ID NO: 42 y la secuencia de la región variable de la cadena ligera de SEQ ID NO: 41. Un anticuerpo anti-FAP puede comprender la secuencia de la región variable de la cadena pesada de SEQ ID NO: 58 y la secuencia de la región variable de la cadena ligera de SEQ ID NO: 57. Un anticuerpo anti-FAP puede comprender la secuencia de la región variable de la cadena pesada de SEQ ID NO: 12 y la secuencia de la región variable de la cadena ligera de SEQ ID NO: 11. Un anticuerpo anti-FAP puede comprender la secuencia de la región variable de la cadena pesada de SEQ ID NO: 7 y la secuencia de la región variable de la cadena ligera de SEQ ID NO: 6.

Como se describe en los documentos WO 2012/146628 y WO 2012/107417, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP puede comprender una secuencia de polipéptidos en la que una cadena pesada de Fab específica para FAP comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación en botón, que, a su vez, comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP puede comprender una secuencia de polipéptidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 69, SEQ ID NO: 70, SEQ ID NO: 71, SEQ ID NO: 72 y SEQ ID NO: 73, o variantes de las mismas que retengan la funcionalidad. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP puede comprender una secuencia de polipéptidos en la que una cadena pesada de Fab específica para FAP comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación en ojal. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP puede comprender una secuencia de polipéptidos seleccionada del grupo de SEQ ID NO: 74, SEQ ID NO: 75 y SEQ ID NO: 76, o variantes de las mismas que retengan la funcionalidad. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP puede comprender una cadena ligera de Fab específica para FAP. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP puede comprender una secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO: 77 o SEQ ID NO: 78, o una variante de la misma que retenga la funcionalidad. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP puede comprender la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO: 77, la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO: 74, y una secuencia de polipéptidos seleccionada del grupo de SEQ ID NO: 69 y SEQ ID NO: 72, o variantes de las mismas que retengan la funcionalidad. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP puede comprender las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 75, SEQ ID NO: 70 y SEQ ID NO: 77, o variantes de las mismas que retengan la funcionalidad. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP puede comprender las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 76, SEQ ID NO: 71 y SEQ ID NO: 78, o variantes de las mismas que retengan la funcionalidad. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP puede comprender las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 77, SEQ ID NO: 74 y SEQ ID NO: 72, o variantes de las mismas que retengan la funcionalidad. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP puede comprender las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 78, SEQ ID NO: 76 y SEQ ID NO: 73, o variantes de las mismas que retengan la funcionalidad. Los polipéptidos están enlazados covalentemente, por ejemplo, por un enlace disulfuro. Cada una de las subunidades del dominio Fc puede comprender las sustituciones aminoacídicas L234A, L235A y P329G (que se pueden denominar LALA P329G).

Como se describe en los documentos WO 2012/146628 y WO 2012/107417, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP puede ser una proteína de fusión IgG-IL-2 qm dirigida a FAP basada en el anticuerpo anti-FAP 4B9 y el mutante cuádruple de IL-2 (IL-2 qm, SEQ ID NO:3), que tiene las secuencias mostradas como SEQ ID NO: 79, 80 y 81 (como se describe, por ejemplo, en los ejemplos 1 y 2 del documento WO 2012/146628 y en el ejemplo 1 del documento WO 2012/107417). La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP que tiene las secuencias mostradas como SEQ ID NO: 79, 80 y 81 en el presente documento se denomina "FAP-IL2v".

La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en la politerapia descrita en el presente documento puede comprender un anticuerpo que se una a un antígeno presentado en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales, y un mutante de IL-2 que tenga afinidad de unión reducida con respecto a la subunidad del receptor de IL-2. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor puede consistir esencialmente en un anticuerpo que se una a un antígeno presentado en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales, y un mutante de IL-2 que tenga afinidad de unión reducida con respecto a la subunidad del receptor de IL-2. El anticuerpo puede ser un anticuerpo IgG, en particular, un anticuerpo IgG1. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor puede comprender un mutante de IL-2 individual que tenga afinidad de unión reducida con respecto a la

subunidad del receptor de IL-2 (es decir, no está presente más de un resto de mutante de IL-2).

Como se describe en el presente documento, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en la politerapia descrita en el presente documento puede comprender un dominio variable de la cadena pesada y un dominio variable de la cadena ligera de un anticuerpo que se une a un antígeno presentado en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales y un dominio Fc que consiste en dos subunidades y que comprende una modificación que promueve la heterodimerización de dos cadenas de polipéptidos no idénticos. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en la politerapia descrita en el presente documento puede comprender un dominio variable de la cadena pesada de un anticuerpo que se une a un antígeno presentado en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales y una subunidad del dominio Fc que comprende una mutación en botón, un dominio variable de la cadena pesada de un anticuerpo que se une a un antígeno presentado en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales y una subunidad del dominio Fc que comprende una mutación en ojal, y un dominio variable de la cadena ligera de un anticuerpo que se une a un antígeno presentado en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales, y un mutante de IL-2 que tiene afinidad de unión reducida con respecto a la subunidad del receptor de IL-2. Por tanto, una inmunocitocina puede comprender un dominio Fc que comprenda una modificación que promueva la heterodimerización de dos cadenas de polipéptidos no idénticos. Una "modificación que promueve la heterodimerización" es una manipulación del esqueleto peptídico o las modificaciones postraduccionales de un polipéptido que reduce o previene la asociación del polipéptido con un polipéptido idéntico para formar un homodímero. Una modificación que promueve la heterodimerización como se usa en el presente documento incluye, en particular, las modificaciones separadas hechas en cada uno de los dos polipéptidos con los que se desea formar un dímero, en la que las modificaciones son complementarias entre sí para promover la asociación de los dos polipéptidos. Por ejemplo, una modificación que promueve la heterodimerización puede alterar la estructura o carga de uno o ambos de los polipéptidos con los que se desea formar un dímero para hacer su asociación estérica o electrostáticamente favorable, respectivamente. Se produce la heterodimerización entre dos polipéptidos no idénticos, tales como dos subunidades de un dominio Fc, en la que otros componentes de inmunoconjugado fusionados a cada una de las subunidades (por ejemplo, resto de unión a antígeno, resto efector) no son iguales. En los inmunoconjugados de acuerdo con la presente invención, la modificación que promueve la heterodimerización está en el dominio Fc. En algunos aspectos de la divulgación, la modificación que promueve la heterodimerización comprende una mutación aminoacídica, específicamente una sustitución aminoacídica. En un aspecto particular de la divulgación, la modificación que promueve la heterodimerización comprende una mutación aminoacídica separada, específicamente una sustitución aminoacídica, en cada una de las dos subunidades del dominio Fc. El sitio de interacción proteína-proteína más extensa entre las dos cadenas de polipéptidos de un dominio Fc de IgG humana está en el dominio CH3 del dominio Fc. Por tanto, en un aspecto de la divulgación, dicha modificación está en el dominio CH3 del dominio Fc. En un aspecto específico de la divulgación, dicha modificación es una modificación de botón en ojal, que comprende una modificación en botón en una de las dos subunidades del dominio Fc y una modificación en ojal en la otra de las dos subunidades del dominio Fc.

La tecnología de botón en ojal se describe, por ejemplo, en los documentos US 5.731.168; US 7.695.936; Ridgway *et al.* Prot Eng 9, 617-621 (1996) y Carter, J Immunol Meth 248, 7-15 (2001). En general, el procedimiento implica introducir una protuberancia ("botón") en la interfase de un primer polipéptido y una cavidad correspondiente ("ojal") en la interfase de un segundo polipéptido, de modo que la protuberancia se pueda situar en la cavidad para promover la formación de heterodímeros y dificultar la formación de homodímeros. Las protuberancias se construyen reemplazando cadenas laterales de aminoácidos pequeñas de la interfase del primer polipéptido por cadenas laterales más grandes (por ejemplo, tirosina o triptófano). Se crean cavidades compensadoras de tamaño idéntico o similar a las protuberancias en la interfase del segundo polipéptido reemplazando cadenas laterales de aminoácidos grandes por otras más pequeñas (por ejemplo, alanina o treonina). Se pueden realizar la protuberancia y la cavidad alterando el ácido nucleico que codifica los polipéptidos, por ejemplo, por mutagénesis específica de sitio o por síntesis de péptidos. En un aspecto específico de la divulgación, una modificación en botón comprende la sustitución aminoacídica T366W en una de las dos subunidades del dominio Fc, y la modificación en ojal comprende las sustituciones aminoacídicas T366S, L368A e Y407V en la otra de las dos subunidades del dominio Fc. En otro aspecto específico de la divulgación, la subunidad del dominio Fc que comprende la modificación en botón comprende adicionalmente la sustitución aminoacídica S354C, y la subunidad del dominio Fc que comprende la modificación en ojal comprende adicionalmente la sustitución aminoacídica Y349C. La introducción de estos dos residuos de cisteína da como resultado la formación de un puente disulfuro entre las dos subunidades de la región Fc, estabilizando además el dímero (Carter, J Immunol Methods 248, 7-15 (2001)). La numeración de los residuos de aminoácido en la región Fc es de acuerdo con el sistema de numeración EU, también llamado índice EU, como se describe en Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5.<sup>a</sup> ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991. Una "subunidad" de un dominio Fc como se usa en el presente documento se refiere a uno de los dos polipéptidos que forman el dominio Fc dimérico, es decir, un polipéptido que comprende regiones constantes C terminales de una cadena pesada de inmunoglobulina, que puede crear una autoasociación estable. Por ejemplo, una subunidad de un dominio Fc de IgG comprende un dominio constante CH2 de IgG y uno CH3 de IgG.

En un aspecto alternativo de la divulgación, una modificación que promueve la heterodimerización de dos cadenas de polipéptidos no idénticos comprende una modificación que media en los efectos de conducción electrostática, por ejemplo, como se describe en el documento WO 2009/089004. En general, este procedimiento implica el reemplazo

de uno o más residuos de aminoácido en la interfase de las dos cadenas de polipéptidos por residuos de aminoácido cargados, de modo que la formación de homodímeros se vuelva electrostáticamente desfavorable, pero la heterodimerización electrostáticamente favorable.

5 Un mutante de IL-2 que tiene afinidad de unión reducida con respecto a la subunidad del receptor de IL-2 se puede fusionar al aminoácido carboxiterminal de la subunidad del dominio Fc que comprende la modificación en botón. Sin quedar vinculado a ninguna teoría, la fusión del mutante de IL-2 a la subunidad que contiene el botón del dominio Fc minimizará además la generación de inmunocitocinas homodiméricas que comprenden dos polipéptidos mutantes de IL-2 (choque estérico de dos polipéptidos que contienen el botón).

10 El dominio Fc de la inmunocitocina se puede genomanipular para que tenga afinidad de unión alterada con respecto a un receptor Fc, específicamente afinidad de unión alterada con respecto a un receptor Fc $\gamma$ , en comparación con un dominio Fc no genomanipulado, como se describe en el documento WO 2012/146628. Se puede alterar la unión del dominio Fc a un componente del complemento, específicamente a C1q, como se describe en el documento WO  
15 2012/146628. Un dominio Fc confiere al inmunoconjugado propiedades farmacocinéticas favorables, incluyendo una semivida en suero larga, lo que contribuye a una buena acumulación en el tejido diana y una proporción de distribución tejido-sangre favorable. Al mismo tiempo, sin embargo, puede dar lugar a un direccionamiento indeseable del inmunoconjugado a células que expresan receptores Fc en lugar de a las células que tienen antígenos preferentes. Además, la coactivación de las vías de señalización del receptor Fc puede dar lugar a la liberación de citocinas que, en combinación con el resto efector y la larga semivida del inmunoconjugado, dé como resultado una activación en exceso de los receptores de citocinas y graves efectos secundarios tras la administración sistémica. Teniendo en cuenta esto, se ha descrito que los inmunoconjugados de IgG-IL-2 convencionales se asocian con reacciones a la infusión (véase, por ejemplo, King *et al.*, J Clin Oncol 22, 4463-4473 (2004)).

25 En consecuencia, se puede genomanipular el dominio Fc de la inmunocitocina para que tenga afinidad de unión reducida con respecto a un receptor Fc. En uno de dichos aspectos de la divulgación, el dominio Fc comprende una o más mutaciones aminoacídicas que reducen la afinidad de unión del dominio Fc a un receptor Fc. Típicamente, la misma o más mutaciones aminoacídicas está(n) presente(s) en cada una de las dos subunidades del dominio Fc. En un aspecto de la divulgación, dicha mutación aminoacídica reduce la afinidad de unión del dominio Fc al receptor Fc en al menos 2 veces, al menos 5 veces o al menos 10 veces. En aspectos de la divulgación donde existe más de una mutación aminoacídica que reduce la afinidad de unión del dominio Fc al receptor Fc, la combinación de estas mutaciones aminoacídicas puede reducir la afinidad de unión del dominio Fc al receptor Fc en al menos 10 veces, al menos 20 veces o incluso al menos 50 veces. En un aspecto de la divulgación, el inmunoconjugado que comprende un dominio Fc genomanipulado presenta menos de un 20 %, en particular menos de un 10 %, más en particular menos de un 5 % de la afinidad de unión a un receptor Fc en comparación con un inmunoconjugado que comprende un dominio Fc no genomanipulado. En un aspecto de la invención, el receptor Fc es un receptor Fc activador. En un aspecto específico de la divulgación, el receptor Fc es un receptor Fc $\gamma$ , más específicamente, un receptor Fc $\gamma$  RIIIa, Fc $\gamma$  RI o Fc $\gamma$  RIIa. Preferentemente, se reduce la unión a cada uno de estos receptores. En algunos aspectos de la divulgación, también se reduce la afinidad de unión con respecto a un componente del complemento, específicamente la afinidad de unión con respecto a C1q. En un aspecto de la divulgación, no se reduce la afinidad de unión con respecto al receptor Fc neonatal (FcRn). La unión sustancialmente similar a FcRn, es decir, la conservación de la afinidad de unión al dominio Fc a dicho receptor, se logra cuando el dominio Fc (o el inmunoconjugado que comprende dicho dominio Fc) presenta más de aproximadamente un 70 % de la afinidad de unión de una forma no genomanipulada del dominio Fc (o el inmunoconjugado que comprende dicha forma no genomanipulada del dominio Fc) a FcRn. Los dominios Fc, o inmunoconjugados de la invención que comprenden dichos dominios Fc, pueden presentar más de aproximadamente un 80 % e incluso más de aproximadamente un 90 % de dicha afinidad. En un aspecto de la divulgación, la mutación aminoacídica es una sustitución aminoacídica. En un aspecto de la divulgación, el dominio Fc comprende una sustitución aminoacídica en la posición P329. En un aspecto más específico de la divulgación, la sustitución aminoacídica es P329A o P329G, en particular P329G. En un aspecto de la divulgación, el dominio Fc comprende otra sustitución aminoacídica en una posición seleccionada de S228, E233, L234, L235, N297 y P331. En un aspecto más específico de la divulgación, la otra sustitución aminoacídica es S228P, E233P, L234A, L235A, L235E, N297A, N297D o P331S. En un aspecto particular de la divulgación, el dominio Fc comprende sustituciones aminoacídicas en las posiciones P329, L234 y L235. En un aspecto más particular de la divulgación, el dominio Fc comprende las mutaciones aminoacídicas L234A, L235A y P329G (LALA P329G). Esta combinación de sustituciones aminoacídicas anula casi completamente la unión al receptor Fc $\gamma$  de un dominio Fc de IgG humana, como se describe en el documento WO 2012/130831. El documento WO 2012/130831 también describe procedimientos de preparación de dichos dominios Fc mutantes y procedimientos para determinar sus propiedades, tales como unión al receptor Fc o funciones efectoras. La numeración de los residuos de aminoácido en la región Fc es de acuerdo con el sistema de numeración EU, también llamado índice EU, como se describe en Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5.<sup>a</sup> ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991.

65 Se pueden preparar dominios Fc mutantes por delección, sustitución, inserción o modificación aminoacídica usando procedimientos genéticos o químicos bien conocidos en la técnica y como se describe en el documento WO 2012/146628. Los procedimientos genéticos pueden incluir mutagénesis específica de sitio de la secuencia de ADN

codificante, PCR, síntesis génica y similares. Los cambios nucleotídicos correctos se pueden verificar, por ejemplo, por secuenciación.

5 En un aspecto de la divulgación, se genomanipula el dominio Fc para que tenga una función efectora disminuida, en comparación con un dominio Fc no genomanipulado, como se describe en el documento WO 2012/146628. La función efectora disminuida puede incluir, pero no se limita a, una o más de las siguientes: citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) disminuida, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) disminuida, fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP) disminuida, secreción de citocinas disminuida, captación de antígenos mediada por inmunocomplejos por células presentadoras de antígeno disminuida, unión a linfocitos NK disminuida, unión a macrófagos disminuida, unión a monocitos disminuida, unión a células polimorfonucleares disminuida, señalización directa inductora de la apoptosis disminuida, reticulación de anticuerpos unidos a diana disminuida, maduración de células dendríticas disminuida o activación de linfocitos T disminuida.

15 Los anticuerpos IgG<sub>4</sub> presentan afinidad de unión reducida con respecto a los receptores Fc y funciones efectoras reducidas en comparación con anticuerpos IgG<sub>1</sub>. De ahí que en algunos aspectos de la divulgación, el dominio Fc de las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de linfocitos T de la invención sea un dominio Fc de IgG<sub>4</sub>, en particular, un dominio FC de IgG<sub>4</sub> humana. En un aspecto de la divulgación, el dominio Fc de IgG<sub>4</sub> comprende sustituciones aminoacídicas en la posición S228, específicamente la sustitución aminoacídica S228P. Para reducir además su afinidad de unión con respecto a un receptor Fc y/o su función efectora, en un aspecto de la divulgación, el dominio Fc de IgG<sub>4</sub> comprende una sustitución aminoacídica en la posición L235, específicamente la sustitución aminoacídica L235E. En otro aspecto de la divulgación, el dominio Fc de IgG<sub>4</sub> comprende una sustitución aminoacídica en la posición P329, específicamente la sustitución aminoacídica P329G. En un aspecto particular de la divulgación, el dominio Fc de IgG<sub>4</sub> comprende sustituciones aminoacídicas en las posiciones S228, L235 y P329, específicamente las sustituciones aminoacídicas S228P, L235E y P329G. Dichos mutantes del dominio Fc de IgG<sub>4</sub> y sus propiedades de unión al receptor Fcγ se describen en el documento WO 2012/130831.

El anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia descrita en el presente documento se selecciona del grupo que consiste en:

30 243.55.S70, 243.55.H1, 243.55.H12, 243.55.H37, 243.55.H70, 243.55.H89, 243.55.S1, 243.55.5, 243.55.8, 243.55.30, 243.55.34, 243.55.S37, 243.55.49, 243.55.51, 243.55.62 y 243.55.84.

35 Estos anticuerpos se describen en el documento WO 2010/77634 (las secuencias se muestran en la figura 11 del documento WO 2010/77634) y se caracterizan por comprender las siguientes secuencias de VH y VL como se describe en el presente documento:

anticuerpo anti-PD-L1	secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena pesada VH, SEQ ID NO:	secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena ligera VL, SEQ ID NO:
243.55.S70	89	92
243.55.H1	90	93
243.55.H12	90	94
243.55.H37	90	95
243.55.H70	90	96
243.55.H89	90	97
243.55.S1	90	98
243.55.5	90	99
243.55.8	90	100
243.55.30	90	101
243.55.34	90	102
243.55.S37	90	103
243.55.49	90	104
243.55.51	90	105
243.55.62	90	106
243.55.84	91	107

40 En un aspecto de la divulgación de la invención, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA usada en la politerapia descrita en el presente documento se caracteriza por comprender

a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:68 y un dominio variable de la cadena ligera VL de

SEQ ID NO:67, y la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:3; o

b) una secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:84 o SEQ ID NO:86 o SEQ ID NO:88, o

5 c) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, y SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88; o

d) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 108, y SEQ ID NO: 109 y SEQ ID NO: 110

y

10

el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender

a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92, o

15

b) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:93, o

c) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:94, o

20

d) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:95, o

25

e) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:96, o

f) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:97, o

30

g) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:98, o

h) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:99, o

35

i) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 100, o

40

j) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 101, o

k) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 102, o

45

l) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 103, o

m) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 104, o

50

n) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 105, o

o) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 106, o

55

p) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:91 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 107.

60

En un aspecto de la divulgación de la invención, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP usada en la politerapia descrita en el presente documento se caracteriza por comprender

a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:42 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:41, y la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:3, o

65

- b) una secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:79 o SEQ ID NO:80 o SEQ ID NO:81, o
- c) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, y SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81, o
- 5 d) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 124, y SEQ ID NO: 125 y SEQ ID NO: 126,
- y
- 10 el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender
- a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92, o
- 15 b) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:93, o
- c) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:94, o
- 20 d) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:95, o
- e) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:96, o
- 25 f) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:97, o
- 30 g) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:98, o
- h) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:99, o
- 35 i) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 100, o
- j) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 101, o
- 40 k) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 102, o
- l) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 103, o
- 45 m) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 104, o
- 50 n) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 105, o
- o) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 106, o
- 55 p) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:91 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 107.
- 60 En un aspecto de la divulgación, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA usada en la politerapia descrita en el presente documento se caracteriza por comprender
- el dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:68 y el dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:67, y la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:3.
- 65 En un aspecto de la divulgación, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA usada en la politerapia descrita en el presente documento se caracteriza por comprender

las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, y SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88.

5 En un aspecto de la divulgación, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA usada en la politerapia descrita en el presente documento se caracteriza por comprender

las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 108, y SEQ ID NO: 109 y SEQ ID NO: 110.

10 En un aspecto de la divulgación, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP usada en la politerapia descrita en el presente documento se caracteriza por comprender

el dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:42 y el dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:41, y la secuencia de polipéptidos de SEQ ID NO:3.

15 En un aspecto de la divulgación, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP usada en la politerapia descrita en el presente documento se caracteriza por comprender

las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, y SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81.

20 En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender

un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92.

25 En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender

30 un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:93.

En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender

35 un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:94.

En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender

40 un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:95.

45 En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender

un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:96.

50 En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender

un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:97.

55 En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender

60 un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:98.

En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender

65 un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:99.

- En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender
- 5 un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 100.
- En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender
- 10 un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 101.
- En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender
- 15 un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 102.
- En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender
- 20 un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 103.
- En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender
- 25 un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 104.
- En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender
- 30 un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 105.
- En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender
- 40 un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 106.
- En un aspecto de la divulgación, el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender
- 45 un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:91 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 107.
- 50 En un aspecto preferente de la divulgación de la invención, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA usada en la politerapia descrita en el presente documento se caracteriza por comprender
- las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, y SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88, y
- 55 el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender
- un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92.
- 60 En un aspecto preferente de la divulgación de la invención, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP usada en la politerapia descrita en el presente documento se caracteriza por comprender
- las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, y SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81, y
- 65 el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender

un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92.

El término "anticuerpo" se usa en el presente documento en el sentido más amplio y engloba diversas estructuras de anticuerpo, incluyendo, pero sin limitarse a, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales y fragmentos de anticuerpo siempre que presenten la actividad de unión a antígeno deseada.

Un "fragmento de anticuerpo" se refiere a una molécula distinta de un anticuerpo intacto que comprende una porción de un anticuerpo intacto que se une al antígeno al que se une el anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen, pero no se limitan a Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')<sub>2</sub>, diacuerpos, anticuerpos lineales, moléculas de anticuerpo monocatenario (por ejemplo, scFv) y anticuerpos de dominio individual. Para una revisión de determinados fragmentos de anticuerpo, véase Hudson *et al.*, Nat Med 9, 129-134 (2003). Para una revisión de los fragmentos scFv, véase, por ejemplo, Pliickthun, en The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, eds. Rosenberg y Moore, Springer-Verlag, Nueva York, pp. 269-315 (1994); véanse también el documento WO 93/16185; y las patentes de EE. UU. n.ºs 5.571.894 y 5.587.458. Para un análisis de los fragmentos Fab y F(ab')<sub>2</sub> que comprenden residuos de epítipo de unión al receptor de rescate y que tienen una semivida *in vivo* incrementada, véase la patente de EE. UU. n.º 5.869.046. Los diacuerpos son fragmentos de anticuerpo con dos sitios de unión a antígeno que pueden ser bivalentes o biespecíficos. Véanse, por ejemplo, los documentos EP 404.097; WO 1993/01161; Hudson *et al.*, Nat Med 9, 129-134 (2003); y Hollinger *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA 90, 6444-6448 (1993). También se describen triacuerpos y tetracuerpos en Hudson *et al.*, Nat Med 9, 129-134 (2003). Los anticuerpos de dominio individual son fragmentos de anticuerpo que comprenden todo o una porción del dominio variable de la cadena pesada o todo o una porción del dominio variable de la cadena ligera de un anticuerpo. En un determinado aspecto de la divulgación, un anticuerpo de dominio individual es un anticuerpo de dominio individual humano (Domantis, Inc., Waltham, MA; véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 6.248.516 B1). Se pueden preparar fragmentos de anticuerpo por diversas técnicas que incluyen, pero sin limitarse a, digestión proteolítica de un anticuerpo intacto, así como producción por células huésped recombinantes (por ejemplo, *E. coli* o fago), como se describe en el presente documento.

El término "dominio de unión a antígeno" o "porción de unión a antígeno de un anticuerpo" cuando se usa en el presente documento se refiere a la parte de un anticuerpo que comprende el área que se une específicamente a y es complementaria a parte o todo un antígeno. Por tanto, el término se refiere a los residuos de aminoácido de un anticuerpo que son responsables de la unión a antígeno. Por ejemplo, se puede proporcionar un dominio de unión a antígeno, por ejemplo, por uno o más dominios variables de anticuerpo (también llamados regiones variables de anticuerpo). En particular, un dominio de unión a antígeno comprende una región variable de la cadena ligera de anticuerpo (VL) y una región variable de la cadena pesada de anticuerpo (VH). La porción de unión a antígeno de un anticuerpo comprende residuos de aminoácido de las "regiones determinantes de la complementariedad" o "CDR". Las regiones "estructurales" o "FR" son las regiones del dominio variable distintas de los residuos de la región hipervariable como se define en el presente documento. Por lo tanto, los dominios variables de la cadena ligera y pesada de un anticuerpo comprenden, desde el extremo N al C, los dominios FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. Especialmente, la CDR3 de la cadena pesada es la región que más contribuye a la unión a antígeno y define las propiedades del anticuerpo. Las regiones CDR y FR se determinan de acuerdo con la definición estándar de Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5.<sup>a</sup> ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991) y/o los residuos de un "bucle hipervariable".

El término "región variable" o "dominio variable" se refiere al dominio de una cadena pesada o ligera de anticuerpo que está implicado en la unión del anticuerpo al antígeno. Los dominios variables de la cadena pesada y de la cadena ligera (VH y VL, respectivamente) de un anticuerpo natural tienen, en general, estructuras similares, comprendiendo cada dominio cuatro regiones estructurales (FR) conservadas y tres regiones hipervariables (HVR). Véase, por ejemplo, Kindt *et al.*, Kuby Immunology, 6.<sup>a</sup> ed., W.H. Freeman y Co., página 91 (2007). Un dominio VH o VL individual puede ser suficiente para conferir especificidad de unión a antígeno.

El término "epítipo" indica un determinante proteico de un antígeno, tal como un CEA o PD-L1 humano, que se pueda unir específicamente a un anticuerpo. Los epítipos normalmente consisten en agrupaciones de moléculas químicamente activas en superficie, tales como aminoácidos o cadenas laterales glucídicas, y normalmente los epítipos tienen características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. Los epítipos conformacionales y no conformacionales se distinguen en que la unión a los primeros, pero no a los segundos, se pierde en presencia de disolventes desnaturizantes.

El término "dominio Fc" o "región Fc" se usa en el presente documento para definir una región C terminal de una cadena pesada de inmunoglobulina que contiene al menos una porción de la región constante. El término incluye regiones Fc de secuencia natural y regiones Fc variantes. Aunque los límites de la región Fc de una cadena pesada de IgG pueden variar ligeramente, la región Fc de la cadena pesada de IgG humana normalmente se define para que se extienda desde Cys226, o desde Pro230, al extremo carboxílico de la cadena pesada. Sin embargo, la lisina C terminal (Lys447) de la región Fc puede estar presente o no. A menos que se especifique de otro modo en el presente documento, la numeración de los residuos de aminoácido en la región Fc o región constante es de acuerdo con el sistema de numeración EU, también llamado índice EU, como se describe en Kabat *et al.*, Sequences of

Proteins of Immunological Interest, 5.<sup>a</sup> ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991. El dominio Fc de un anticuerpo no está implicado directamente en la unión de un anticuerpo a un antígeno, sino que presenta diversas funciones efectoras. Un "dominio Fc de un anticuerpo" es una expresión bien conocida por el experto en la técnica y se define en base a la escisión con papaína de los anticuerpos. Dependiendo de la secuencia de aminoácidos de la región constante de sus cadenas pesadas, los anticuerpos o inmunoglobulinas se dividen en las clases: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y varias de estas se pueden dividir además en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4, IgA1 e IgA2. De acuerdo con las regiones constantes de la cadena pesada, las diferentes clases de inmunoglobulinas se llaman  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$ , y  $\mu$ , respectivamente. El dominio Fc de un anticuerpo está directamente implicado en la ADCC (citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos) y CDC (citotoxicidad dependiente del complemento) en base a la activación del complemento, la unión a C1q y la unión al receptor Fc. La activación del complemento (CDC) se inicia uniendo el factor del complemento C1q al dominio Fc de la mayoría de las subclases de anticuerpos IgG. Aunque la influencia de un anticuerpo sobre el sistema del complemento es dependiente de determinadas condiciones, la unión a C1q está provocada por sitios de unión definidos en el dominio Fc. Dichos sitios de unión son conocidos en el estado de la técnica y se describen, por ejemplo, por Boackle, R.J., *et al.*, Nature 282 (1979) 742-743; Lukas, T.J., *et al.*, J. Immunol. 127 (1981) 2555-2560; Brunhouse, R., y Cebra, J.J., Mol. Immunol. 16 (1979) 907-917; Burton, D.R., *et al.*, Nature 288 (1980) 338-344; Thommesen, J.E., *et al.*, Mol. Immunol. 37 (2000) 995-1004; Idusogie, E.E., *et al.*, J. Immunol. 164 (2000) 4178-4184; Hezareh, M., *et al.*, J. Virology 75 (2001) 12161-12168; Morgan, A., *et al.*, Immunology 86 (1995) 319-324; el documento EP 0 307 434. Dichos sitios de unión son, por ejemplo, L234, L235, D270, N297, E318, K320, K322, P331 y P329 (numeración de acuerdo con el índice EU de Kabat, E.A., véase anteriormente). Los anticuerpos de la subclase IgG1, IgG2 e IgG3 normalmente muestran activación del complemento y unión a C1q y C3, mientras que IgG4 no activa el sistema del complemento y no se une a C1q ni a C3.

En un aspecto de la divulgación, un componente de anticuerpo de una inmunocitocina o un anticuerpo descrito en el presente documento comprende un dominio Fc derivado de origen humano y preferentemente todas las demás partes de las regiones constantes humanas. Como se usa en el presente documento, la expresión "dominio Fc derivado de origen humano" indica un dominio Fc que es un dominio Fc de un anticuerpo humano de la subclase IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4, preferentemente un dominio Fc de la subclase IgG1 humana, un dominio Fc mutado de la subclase IgG1 humana (en un aspecto de la divulgación con una mutación en L234A + L235A), un dominio Fc de la subclase IgG4 humana o bien un dominio Fc mutado de la subclase IgG4 humana (en un aspecto de la divulgación con una mutación en S228P). En un aspecto preferente de la divulgación, la región constante de la cadena pesada humana es SEQ ID NO: 58 (subclase IgG1 humana), en otro aspecto preferente de la divulgación, la región constante de la cadena pesada humana es SEQ ID NO: 59 (subclase IgG1 humana con las mutaciones L234A y L235A), en otro aspecto preferente de la divulgación, la región constante de la cadena pesada humana es SEQ ID NO: 60 (subclase IgG4 humana), y en otro aspecto preferente de la divulgación, la región constante de la cadena pesada humana es SEQ ID NO: 61 (subclase IgG4 humana con una mutación S228P). En un aspecto de la divulgación, dichos anticuerpos tienen una función efectora reducida o mínima. En un aspecto de la divulgación, la función efectora mínima resulta de una mutación en Fc sin efector. En un aspecto de la divulgación, la mutación en Fc sin efector es L234A/L235A o L234A/L235A/P329G o N297A o D265A/N297A. En un aspecto de la divulgación, la mutación en Fc sin efector se selecciona para cada uno de los anticuerpos independientemente entre sí del grupo que comprende (que consiste en) L234A/L235A, L234A/L235A/P329G, N297A y D265A/N297A (numeración EU).

En un aspecto de la divulgación, los componentes de anticuerpo de las inmunocitocinas o anticuerpos descritos en el presente documento son de la clase IgG humana (es decir, de la subclase IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4).

En un aspecto preferente de la divulgación, los componentes de anticuerpo de las inmunocitocinas o anticuerpos descritos en el presente documento son de la subclase IgG1 humana o de la subclase IgG4 humana. En un aspecto de la divulgación, los componentes de anticuerpo de las inmunocitocinas o anticuerpos descritos en el presente documento son de la subclase IgG1 humana. En un aspecto de la divulgación, los componentes de anticuerpo de las inmunocitocinas o anticuerpos descritos en el presente documento son de la subclase IgG4 humana.

En un aspecto de la divulgación, un componente de anticuerpo de una inmunocitocina o un anticuerpo descrito en el presente documento se caracteriza por que las cadenas constantes son de origen humano. Dichas cadenas constantes son bien conocidas en el estado de la técnica y, por ejemplo, se describen por Kabat, E.A. (véase, por ejemplo, Johnson, G. y Wu, T.T., Nucleic Acids Res. 28 (2000) 214-218). Por ejemplo, una región constante de la cadena pesada humana útil comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114. Por ejemplo, una región constante de la cadena ligera humana útil comprende una secuencia de aminoácidos de una región constante de la cadena ligera kappa de SEQ ID NO: 113.

Se pretende que los términos "ácido nucleico" o "molécula de ácido nucleico", como se usa en el presente documento, incluyan moléculas de ADN y moléculas de ARN. Una molécula de ácido nucleico puede ser monocatenaria o bicatenaria, pero es preferentemente ADN bicatenario.

El término "aminoácido" como se usa en la presente solicitud indica el grupo de aminoácidos  $\alpha$  carboxi naturales que comprende alanina (código de tres letras: ala, código de una letra: A), arginina (arg, R), asparagina (asn, N), ácido aspártico (asp, D), cisteína (cys, C), glutamina (gln, Q), ácido glutámico (glu, E), 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).

5 El "porcentaje (%) de identidad de secuencia de aminoácidos" con respecto a una secuencia de polipéptidos de referencia se define como el porcentaje de residuos de aminoácido de una secuencia candidata que son idénticos a los residuos de aminoácido en la secuencia de polipéptidos de referencia, después de alinear las secuencias e introducir huecos, si fuera necesario, para lograr el máximo porcentaje de identidad de secuencia, y sin tener en consideración ninguna sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencia. Se puede lograr la alineación para los propósitos de determinar el porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos de diversos modos que están dentro de la habilidad en la técnica, por ejemplo, usando un programa informático disponible públicamente, tal como el programa informático BLAST, BLAST-2, ALIGN o Megalign (DNASTAR). Los expertos en la técnica pueden determinar los parámetros apropiados para alinear secuencias, incluyendo cualquier algoritmo necesario para lograr la alineación máxima sobre la longitud completa de las secuencias que se están comparando. Sin embargo, para los propósitos en el presente documento, se generan valores de % de identidad de secuencia de aminoácidos usando el programa informático de comparación de secuencias ALIGN-2. El programa informático de comparación de secuencias ALIGN-2 se creó por Genentech, Inc., y el código fuente se ha presentado con la documentación de usuario en la Oficina de Derechos de Autor de EE. UU., Washington D.C., 20559, donde se ha registrado con el n.º de registro de derechos de autor de EE. UU. TXU510087. El programa ALIGN-2 está disponible públicamente de Genentech, Inc., South San Francisco, California, o se puede compilar a partir del código fuente. Se debe compilar el programa ALIGN-2 para su uso en un sistema operativo UNIX, incluyendo UNIX V4.0D digital. Se establecen todos los parámetros de comparación de secuencias por el programa ALIGN-2 y no varían. En situaciones donde se emplea ALIGN-2 para las comparaciones de secuencias de aminoácidos, el % de identidad de secuencia de aminoácidos de una secuencia de aminoácidos A dada con respecto a, con o frente a una secuencia de aminoácidos B dada (que, de forma alternativa, se puede parafrasear como una secuencia de aminoácidos A dada que tiene o comprende un determinado % de identidad de secuencia de aminoácidos con respecto a, con o frente a una secuencia de aminoácidos B dada) se calcula como sigue:

100 veces la fracción X/Y

30 donde X es el número de residuos de aminoácido puntuados como emparejamientos idénticos por el programa de alineación de secuencias ALIGN-2 en esa alineación del programa de A y B, y donde Y es el número total de residuos de aminoácido en B. Se apreciará que si la longitud de la secuencia de aminoácidos A no es igual a la longitud de la secuencia de aminoácidos B, el % de identidad de secuencia de aminoácidos de A con respecto a B no igualará el % de identidad de secuencia de aminoácidos de B con respecto a A. A menos que se indique específicamente de otro modo, todos los valores de % de identidad de secuencia de aminoácidos usados en el presente documento se obtienen como se describe en el párrafo inmediatamente precedente usando el programa informático ALIGN-2. Por un ácido nucleico o polinucleótido que tiene una secuencia de nucleótidos al menos, por ejemplo, un 95 % "idéntica" a una secuencia de nucleótidos de referencia de la presente invención se pretende que la secuencia de nucleótidos del polinucleótido sea idéntica a la secuencia de referencia excepto en que la secuencia de polinucleótido puede incluir hasta cinco mutaciones puntuales por cada 100 nucleótidos de la secuencia de nucleótidos de referencia. En otras palabras, para obtener un polinucleótido que tenga una secuencia de nucleótidos al menos un 95 % idéntica a una secuencia de nucleótidos de referencia, hasta un 5 % de los nucleótidos en la secuencia de referencia se puede delecionar o sustituir con otro nucleótido, o un número de nucleótidos hasta un 5 % de los nucleótidos totales en la secuencia de referencia se puede insertar en la secuencia de referencia. Estas alteraciones de la secuencia de referencia se pueden producir en las posiciones terminales 5' o 3' de la secuencia de nucleótidos de referencia o en cualquier parte entre esas posiciones terminales, intercaladas individualmente entre residuos en la secuencia de referencia o bien en uno o más grupos contiguos dentro de la secuencia de referencia. Como una cuestión práctica, si cualquier secuencia de polinucleótido particular es al menos un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a una secuencia de nucleótidos de la presente invención, se puede determinar convencionalmente usando programas de ordenador conocidos, tales como los analizados anteriormente para los polipéptidos (por ejemplo, ALIGN-2).

El término "casete de expresión" se refiere a un polinucleótido generado de forma recombinante o sintética, con una serie de elementos de ácido nucleico especificados que permiten la transcripción de un ácido nucleico particular en una célula diana. El casete de expresión recombinante se puede incorporar en un plásmido, cromosoma, ADN mitocondrial, ADN de plásmido, virus o fragmento de ácido nucleico. Típicamente, la porción de casete de expresión recombinante de un vector de expresión incluye, entre otras secuencias, una secuencia de ácido nucleico que se va a transcribir y un promotor. En determinados aspectos de la divulgación, el casete de expresión de la invención comprende secuencias de polinucleótido que codifican polipéptidos descritos en el presente documento o fragmentos de los mismos.

El término "vector" o "vector de expresión" es sinónimo de "construcción de expresión" y se refiere a una molécula de ADN que se usa para introducir y dirigir la expresión de un gen específico al que se asocia de forma funcional en una célula diana. El término incluye el vector como una estructura de ácido nucleico autorreplicante, así como el vector incorporado en el genoma de una célula huésped en la que se ha introducido. El vector de expresión comprende un casete de expresión. Los vectores de expresión permiten la transcripción de grandes cantidades de

ARNm estable. Una vez que el vector de expresión esté en el interior de la célula diana, la molécula de ácido ribonucleico o proteína que se codifica por el gen se produce por la maquinaria de transcripción y/o traducción celular. En un aspecto de la divulgación, el vector de expresión comprende un casete de expresión que comprende secuencias de polinucleótido que codifican polipéptidos descritos en el presente documento o fragmentos de los mismos.

El término "artificial" se refiere a una composición sintética o no derivada de células huésped, por ejemplo, un oligonucleótido sintetizado químicamente.

Los términos "célula huésped", "línea de células huésped" y "cultivo de células huésped" se usan de manera intercambiable y se refieren a células en las que se ha introducido ácido nucleico exógeno, incluyendo la descendencia de dichas células. Las células huésped incluyen "transformantes" y "células transformadas" que incluyen la célula transformada primaria y la descendencia derivada de la misma independientemente del número de pases. La descendencia puede no ser completamente idéntica en contenido de ácido nucleico a una célula original, pero puede contener mutaciones. La descendencia mutante que tiene la misma función o actividad biológica que la cribada o seleccionada en la célula transformada originalmente se incluye en el presente documento. Una célula huésped es cualquier tipo de sistema celular que se puede usar para generar los polipéptidos descritos en el presente documento. En un aspecto de la divulgación, se genomanipula la célula huésped para permitir la producción de un polipéptido con oligosacáridos modificados en su región Fc. En determinados aspectos de la divulgación, las células huésped se han manipulado para expresar niveles incrementados de uno o más polipéptidos que tienen actividad  $\beta$ -(1,4)-N-acetilglucosaminiltransferasa III (GnTIII). En determinados aspectos de la divulgación, las células huésped se han manipulado además para expresar niveles incrementados de uno o más polipéptidos que tienen actividad  $\alpha$ -manosidasa II (ManII). Las células huésped incluyen células cultivadas, por ejemplo, células cultivadas de mamífero, tales como células CHO, células BHK, células NS0, células SP2/0, células de mieloma YO, células de mieloma de ratón P3X63, células PER, células PER.C6 o células de hibridoma, células de levadura, células de insecto y células vegetales, por nombrar solo algunas, pero también células comprendidas en un animal transgénico, planta transgénica o tejido animal o vegetal cultivado.

Las inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a tumor descritas en el presente documento se pueden obtener, por ejemplo, por síntesis de péptidos en estado sólido (por ejemplo, síntesis en fase sólida de Merrifield) o producción recombinante. Para la producción recombinante, uno o más polinucleótidos que codifican la inmunocitocina (fragmento), por ejemplo, como se describe anteriormente, se aíslan e insertan en uno o más vectores para su clonación y/o expresión adicional en una célula huésped. Dicho polinucleótido se puede aislar y secuenciar fácilmente usando procedimientos convencionales. En un aspecto de la invención, se proporciona un vector, preferentemente un vector de expresión, que comprende uno o más de los polinucleótidos. Se pueden usar procedimientos que sean bien conocidos por los expertos en la técnica para construir vectores de expresión que contengan la secuencia codificante de un inmunoconjugado (fragmento) junto con señales de control de la transcripción/traducción apropiadas. Estos procedimientos incluyen técnicas de ADN recombinante *in vitro*, técnicas sintéticas y recombinación *in vivo*/recombinación genética. Véanse, por ejemplo, las técnicas descritas en Maniatis *et al.*, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y. (1989); y Ausubel *et al.*, CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y. (1989). El vector de expresión puede ser parte de un plásmido, virus, o puede ser un fragmento de ácido nucleico. El vector de expresión incluye un casete de expresión en el que el polinucleótido que codifica la inmunocitocina (fragmento) (es decir, la región codificante) se clona en asociación funcional con un promotor y/u otros elementos de control de la transcripción o de la traducción. Como se usa en el presente documento, una "región codificante" es una porción de ácido nucleico que consiste en codones traducidos en aminoácidos. Aunque no se traduzca un "codón de terminación" (TAG, TGA o TAA) en un aminoácido, se puede considerar que es parte de una región codificante, si está presente, pero cualquier secuencia flanqueante, por ejemplo, promotores, sitios de unión a ribosoma, terminadores transcripcionales, intrones, regiones no traducidas en 5' y 3' y similares, no son parte de una región codificante. Pueden estar presentes dos o más regiones codificantes en una construcción de polinucleótido individual, por ejemplo, en un vector individual, o en construcciones de polinucleótido separadas, por ejemplo, en vectores separados (diferentes).

Además, cualquier vector puede contener una región codificante individual, o puede comprender dos o más regiones codificantes, por ejemplo, un vector puede codificar uno o más polipéptidos, que se separan pos- o cotraduccionalmente en las proteínas finales por medio de escisión proteolítica. Además, un vector, polinucleótido o ácido nucleico puede codificar regiones codificantes heterólogas, fusionadas o bien no fusionadas a un polinucleótido que codifica la inmunocitocina (fragmento), o una variante o derivado de la misma. Las regiones codificantes heterólogas incluyen, sin limitación, elementos o motivos especializados, tales como un péptido señal secretor o un dominio funcional heterólogo. Una asociación funcional es cuando una región codificante para un producto génico, por ejemplo, un polipéptido, se asocia con una o más secuencias reguladoras de tal modo que dispone la expresión del producto génico bajo la influencia o control de la(s) secuencia(s) reguladora(s). Dos fragmentos de ADN (tales como una región codificante de polipéptidos y un promotor asociado con la misma) se "asocian de forma funcional" si la inducción de la función de promotor da como resultado la transcripción de ARNm que codifica el producto génico deseado y si la naturaleza del enlace entre los dos fragmentos de ADN no interfiere en la capacidad de las secuencias reguladoras de la expresión de dirigir la expresión del producto génico ni interfiere

en la capacidad de que se transcriba el molde de ADN. Por tanto, una región de promotor se asociaría de forma funcional con un ácido nucleico que codificara un polipéptido si el promotor pudiera efectuar la transcripción de ese ácido nucleico. El promotor puede ser un promotor específico de célula que dirige la transcripción sustancial del ADN solo en células predeterminadas. Otros elementos de control de la transcripción, además de un promotor, por ejemplo, potenciadores, operadores, represores y señales de terminación de la transcripción, se pueden asociar de forma funcional con el polinucleótido para dirigir la transcripción específica de célula. En el presente documento se divulgan promotores adecuados y otras regiones de control de la transcripción. Es conocida una variedad de regiones de control de la transcripción por los expertos en la técnica. Estas incluyen, sin limitación, regiones de control de la transcripción, que funcionan en células de vertebrado, tales como, pero sin limitarse a, segmentos de promotor y potenciador de citomegalovirus (por ejemplo, el promotor temprano inmediato, conjuntamente con intrón-A), virus de simio 40 (por ejemplo, el promotor temprano) y retrovirus (tales como, por ejemplo, el virus del sarcoma de Rous). Otras regiones de control de la transcripción incluyen las derivadas de genes de vertebrado, tales como actina, proteína de choque térmico, hormona del crecimiento bovina y  $\alpha$ -globina de conejo, así como otras secuencias que pueden controlar la expresión génica en células eucariotas. Las regiones de control de la transcripción adecuadas adicionales incluyen promotores y potenciadores específicos de tejido, así como promotores inducibles (por ejemplo, promotores inducibles por tetraciclinas). De forma similar, es conocida una variedad de elementos de control de la traducción por los expertos en la técnica. Estos incluyen, pero no se limitan a, sitios de unión a ribosoma, codones de iniciación y terminación de la traducción y elementos derivados de sistemas víricos (en particular, un sitio interno de entrada al ribosoma o IRES, también denominado secuencia CITE). El casete de expresión también puede incluir otros rasgos característicos, tales como un origen de replicación, y/o elementos de integración cromosómica, tales como repeticiones terminales largas (RTL) retrovíricas, o repeticiones terminales invertidas (RTI) víricas adenoasociadas (VAA).

Las regiones codificantes de polinucleótidos y ácidos nucleicos descritas en el presente documento se pueden asociar con regiones codificantes adicionales que codifican péptidos secretores o señal, que dirigen la secreción de un polipéptido codificado por un polinucleótido. Por ejemplo, si se desea la secreción de la inmunocitocina, se puede disponer en dirección 5' el ADN que codifica una secuencia señal del ácido nucleico que codifica una inmunocitocina o un fragmento del mismo. De acuerdo con la hipótesis de la señal, las proteínas secretadas por células de mamífero tienen una secuencia de péptido señal o líder secretor que se escinde de la proteína madura una vez que se ha iniciado la exportación de la cadena de proteínas creciente a través del retículo endoplásmico rugoso. Los expertos en la técnica están al tanto de que los polipéptidos secretados por células de vertebrado tienen, en general, un péptido señal fusionado al extremo N del polipéptido, que se escinde del polipéptido traducido para producir una forma secretada o "madura" del polipéptido. En determinados aspectos de la divulgación, se usa el péptido señal natural, por ejemplo, un péptido señal de la cadena pesada o de la cadena ligera de inmunoglobulina, o un derivado funcional de esa secuencia que retenga la capacidad de dirigir la secreción del polipéptido que se asocia de forma funcional con él. De forma alternativa, se puede usar un péptido señal de mamífero heterólogo, o un derivado funcional del mismo. Por ejemplo, la secuencia líder natural se puede sustituir con la secuencia líder del activador del plasminógeno tisular (APT) humano o  $\beta$ -glucuronidasa de ratón. Se muestran secuencias de aminoácidos y de polinucleótido correspondientes ejemplares de péptidos señal secretores en las SEQ ID NO: 115-123.

El ADN que codifica una secuencia de proteínas corta que se podría usar para facilitar la purificación posterior (por ejemplo, una marca de histidina) o ayudar a marcar la inmunocitocina se puede incluir dentro o en los extremos del polinucleótido que codifica la inmunocitocina (fragmento).

En otro aspecto de la invención, se proporciona una célula huésped que comprende uno o más polinucleótidos descritos en el presente documento. En determinados aspectos de la divulgación, se proporciona una célula huésped que comprende uno o más vectores descritos en el presente documento. Los polinucleótidos y vectores pueden incorporar cualquiera de los rasgos característicos, individualmente o en combinación, descritos en el presente documento en relación con los polinucleótidos y vectores, respectivamente. En uno de dichos aspectos de la invención, una célula huésped comprende (por ejemplo, se ha transformado o transfectado con) un vector que comprende un polinucleótido que codifica (parte de) una inmunocitocina descrita en el presente documento. Como se usa en el presente documento, el término "célula huésped" se refiere a cualquier clase de sistema celular que se pueda genomanipular para generar las inmunocitocinas o fragmentos de las mismas. Las células huésped adecuadas para replicarse y para soportar la expresión de inmunocitocinas son bien conocidas en la técnica. Dichas células se pueden transfectar o transducir según sea apropiado con el vector de expresión particular y se pueden cultivar grandes cantidades de células que contienen vectores para su sembrado en fermentadores a gran escala para obtener cantidades suficientes de las inmunocitocinas para aplicaciones clínicas. Las células huésped adecuadas incluyen microorganismos procariotas, tales como *E. coli*, o diversas células eucariotas, tales como células de ovario de hámster chino (CHO), células de insecto o similares. Por ejemplo, se pueden producir polipéptidos en bacterias, en particular, cuando no se necesita glucosilación. Después de su expresión, se puede aislar el polipéptido de la pasta de células bacterianas en una fracción soluble y se puede purificar adicionalmente. Además de los procariotas, los microbios eucariotas, tales como los hongos filamentosos o levaduras, son huéspedes de clonación o expresión adecuados para vectores que codifican polipéptidos, incluyendo cepas de hongos y levaduras con vías de glucosilación que se han "humanizado", dando como resultado la producción de un polipéptido con un patrón de glucosilación parcial o completamente humano. Véanse Gerngross, *Nat Biotech* 22, 1409-1414 (2004) y Li *et al.*, *Nat Biotech* 24, 210-215 (2006). Las células huésped adecuadas para la expresión de

polipéptidos (glucosilados) también se derivan de organismos multicelulares (invertebrados y vertebrados). Los ejemplos de células de invertebrado incluyen células vegetales y de insecto. Se han identificado numerosas cepas de baculovirus, que se pueden usar conjuntamente con células de insecto, en particular, para la transfección de células de *Spodoptera frugiperda*. También se pueden utilizar cultivos de células vegetales como huéspedes.

5 Véanse, por ejemplo, las patentes de EE. UU. n.ºs 5.959.177, 6.040.498, 6.420.548, 7.125.978 y 6.417.429 (que describen la tecnología PLANTIBODIES™ para producir anticuerpos en plantas transgénicas). También se pueden usar células de vertebrado como huéspedes. Por ejemplo, pueden ser útiles líneas de células de mamífero que se adapten a su cultivo en suspensión. Otros ejemplos de líneas de células huésped de mamífero útiles son la línea CV1 de riñón de mono transformada por SV40 (COS-7); línea de riñón embrionario humano (células 293 o 293T,

10 como se describe, por ejemplo, en Graham *et al.*, J Gen Virol 36, 59 (1977)), células de riñón de cría de hámster (BHK), células de Sertoli de ratón (células TM4 como se describe, por ejemplo, en Mather, Biol Reprod 23, 243-251 (1980)), células de riñón de mono (CV1), células de riñón de mono verde africano (VERO-76), células de carcinoma de cuello uterino humano (HELA), células de riñón canino (MDCK), células de hígado de rata búfalo (BRL 3A), células de pulmón humano (W138), células de hígado humano (Hep G2), células de tumor mamario de ratón (MMT 060562), células TRI (como se describe, por ejemplo, en Mather *et al.*, Annals N.Y. Acad Sci 383, 44-68 (1982)),

15 células MRC 5 y células FS4. Otras líneas de células huésped de mamífero útiles incluyen células de ovario de hámster chino (CHO), incluyendo células CHO-dhfr (Urlaub *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA 77, 4216 (1980)); y líneas celulares de mieloma, tales como YO, NS0, P3X63 y Sp2/0. Para una revisión de determinadas líneas de células huésped de mamífero adecuadas para la producción de proteínas, véase, por ejemplo, Yazaki y Wu, Methods in

20 Molecular Biology, vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003). Las células huésped incluyen células cultivadas, por ejemplo, células cultivadas de mamífero, células de levadura, células de insecto, células bacterianas y células vegetales, por nombrar solo algunas, pero también células comprendidas en un animal transgénico, planta transgénica o tejido animal o vegetal cultivado. En un aspecto de la invención, la célula huésped es una célula eucariota, preferentemente una célula de mamífero, tal como una célula de ovario de hámster chino

25 (CHO), una célula de riñón embrionario humano (HEK) o una célula linfocítica (por ejemplo, célula YO, NS0, Sp20).

Las tecnologías estándar son conocidas en la técnica por expresar genes exógenos en estos sistemas. Las células que expresan un polipéptido que comprende la cadena pesada o bien la ligera de un anticuerpo se pueden genomanipular para que también expresen la otra de las cadenas de anticuerpo, de modo que el producto expresado sea un anticuerpo que tenga tanto una cadena pesada como una ligera.

30

Se proporciona un procedimiento de producción de una inmunocitocina descrita en el presente documento, en el que el procedimiento comprende cultivar una célula huésped que comprende un polinucleótido que codifica la inmunocitocina, como se proporciona en el presente documento, en condiciones adecuadas para la expresión de la inmunocitocina, y recuperar la inmunocitocina de la célula huésped (o medio de cultivo de células huésped).

35

Los componentes de la inmunocitocina están genéticamente fusionados entre sí. Las inmunocitocinas se pueden diseñar de modo que sus componentes se fusionen directamente entre sí o indirectamente a través de una secuencia de conector. La composición y longitud del conector se pueden determinar de acuerdo con procedimientos bien conocidos en la técnica y se puede someter a prueba para determinar su eficacia. Se encuentran ejemplos de secuencias de conector entre el resto efector y el dominio Fc en las secuencias mostradas en las SEQ ID NO: 69, 70, 71, 72, 73, 79, 82, 83 y 84. También se pueden incluir secuencias adicionales para incorporar un sitio de escisión para separar los componentes individuales de la fusión si se desea, por ejemplo, una secuencia de reconocimiento de endopeptidasas.

40

La inmunocitocina comprende al menos una región variable de anticuerpo que se puede unir a un determinante antigénico. Las regiones variables pueden formar parte de y derivar de anticuerpos naturales o no naturales y fragmentos de los mismos. Los procedimientos para producir anticuerpos policlonales y anticuerpos monoclonales son bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Harlow y Lane, "Antibodies, a laboratory manual", Cold Spring Harbor Laboratory, 1988). Se pueden construir anticuerpos no naturales usando síntesis de péptidos en fase sólida, se pueden producir de forma recombinante (por ejemplo, como se describe en la patente de EE. UU. n.º 4.186.567) o se pueden obtener, por ejemplo, cribando colecciones combinatorias que comprendan cadenas pesadas variables y cadenas ligeras variables (véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 5.969.108 concedida a McCafferty). Los restos de unión a antígeno y procedimientos para producir los mismos también se describen en detalle en la publicación PCT WO 2011/020783.

45

50

55

Se puede usar cualquier especie animal de anticuerpo, fragmento de anticuerpo, dominio de unión a antígeno o región variable en las inmunocitocinas descritas en el presente documento. Los anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, dominios de unión a antígeno o regiones variables no limitantes útiles en la presente invención pueden ser de origen murino, de primate o humano. Si la inmunocitocina se pretende para su uso humano, se puede usar una forma quimérica del anticuerpo en la que las regiones constantes del anticuerpo sean de un ser humano. También se puede preparar una forma humanizada o completamente humana del anticuerpo de acuerdo con procedimientos bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, la patente de EE. UU. n.º 5.565.332 concedida a Winter). La humanización se puede lograr por diversos procedimientos incluyendo, pero sin limitarse a, (a) injertar las CDR no humanas (por ejemplo, anticuerpo receptor) en regiones estructurales y constantes (por ejemplo, anticuerpo receptor) humanas con o sin retención de residuos estructurales críticos (por ejemplo, los que son

60

65

importantes para retener buenas funciones de afinidad de unión a antígeno o de anticuerpo), (b) injertar solo las regiones determinantes de la especificidad (SDR o a-CDR; los residuos críticos para la interacción anticuerpo-antígeno) no humanas en regiones estructurales y constantes humanas, o (c) trasplantar todos los dominios variables no humanos, pero "enmascararlos" con una sección similar a humana por reemplazo de residuos superficiales. Los anticuerpos humanizados y los procedimientos de preparación de los mismos se revisan, por ejemplo, en Almagro y Fransson, *Front Biosci* 13, 1619-1633 (2008), y se describen además, por ejemplo, en Riechmann *et al.*, *Nature* 332, 323-329 (1988); Queen *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA* 86, 10029-10033 (1989); las patentes de EE. UU. n.ºs 5.821.337, 7.527.791, 6.982.321 y 7.087.409; Jones *et al.*, *Nature* 321, 522-525 (1986); Morrison *et al.*, *Proc Natl Acad Sci* 81, 6851-6855 (1984); Morrison y Oi, *Adv Immunol* 44, 65-92 (1988); Verhoeyen *et al.*, *Science* 239, 1534-1536 (1988); Padlan, *Molec Immunol* 31(3), 169-217 (1994); Kashmiri *et al.*, *Methods* 36, 25-34 (2005) (que describe el injerto de SDR (a-CDR)); Padlan, *Mol Immunol* 28, 489-498 (1991) (que describe el "rebarnizado"); Dall'Acqua *et al.*, *Methods* 36, 43-60 (2005) (que describe el "barajado de FR"); y Osbourn *et al.*, *Methods* 36, 61-68 (2005) y Klimka *et al.*, *Br J Cancer* 83, 252-260 (2000) (que describe el enfoque de "selección guiada" para el barajado de FR). Se pueden producir anticuerpos humanos y regiones variables humanas usando diversas técnicas conocidas en la técnica. Los anticuerpos humanos se describen, en general, en van Dijk y van de Winkel, *Curr Opin Pharmacol* 5, 368-74 (2001) y Lonberg, *Curr Opin Immunol* 20, 450-459 (2008). Las regiones variables humanas pueden formar parte de y derivar de anticuerpos monoclonales humanos preparados por el procedimiento de hibridoma (véase, por ejemplo, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1987)). También se pueden preparar anticuerpos humanos y regiones variables humanas administrando un inmunógeno a un animal transgénico que se haya modificado para producir anticuerpos humanos intactos o anticuerpos intactos con regiones variables humanas en respuesta a una exposición antigénica (véase, por ejemplo, Lonberg, *Nat Biotech* 23, 1117-1125 (2005)). También se pueden generar anticuerpos humanos y regiones variables humanas aislando secuencias de la región variable de clones de Fv seleccionadas de colecciones de presentación en fagos derivadas de seres humanos (véase por ejemplo, Hoogenboom *et al.* en *Methods in Molecular Biology* 178, 1-37 (O'Brien *et al.*, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001); y McCafferty *et al.*, *Nature* 348, 552-554; Clackson *et al.*, *Nature* 352, 624-628 (1991)). Los fagos típicamente presentan fragmentos de anticuerpo, como fragmentos Fv monocatenarios (scFv) o bien como fragmentos Fab. Se puede encontrar una descripción detallada de la preparación de restos de unión a antígeno para inmunoconjugados por presentación en fagos en los ejemplos adjuntos a la publicación PCT WO 2011/020783.

En determinados aspectos de la divulgación, se genomanipulan los anticuerpos para que tengan una afinidad de unión potenciada de acuerdo, por ejemplo, con los procedimientos divulgados en la publicación PCT WO 2011/020783 (véanse los ejemplos relacionados con la maduración de la afinidad) o la pub. de sol. de pat. de EE. UU. n.º 2004/0132066. La capacidad de la inmunocitocina de unirse a un determinante antigénico específico se puede medir a través de un ensayo de inmunoadsorción enzimática (ELISA) o bien otras técnicas conocidas para un experto en la técnica, por ejemplo, la técnica de resonancia de plasmón superficial (analizada en un sistema BIACORE T100) (Liljeblad, *et al.*, *Glyco J* 17, 323-329 (2000)), y ensayos de unión tradicionales (Heeley, *Endocr Res* 28, 217-229 (2002)). Se pueden usar ensayos de competencia para identificar un anticuerpo, fragmento de anticuerpo, dominio de unión a antígeno o dominio variable que compita con un anticuerpo de referencia por su unión a un antígeno particular, por ejemplo, un anticuerpo que compita con el anticuerpo CH1A1A 98/99 2F1 por su unión a CEA. En determinados aspectos de la divulgación, dicho anticuerpo competidor se une al mismo epítipo (por ejemplo, un epítipo lineal o uno conformacional) que está unido por el anticuerpo de referencia. Se proporcionan procedimientos ejemplares detallados para cartografiar un epítipo al que se une un anticuerpo en Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols", en *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ). En un ensayo de competencia ejemplar, se incubaba el antígeno inmovilizado (por ejemplo, CEA) en una solución que comprende un primer anticuerpo marcado que se une al antígeno (por ejemplo, el anticuerpo CH1A1A 98/99 2F1) y un segundo anticuerpo no marcado que se esté sometiendo a prueba para determinar su capacidad de competir con el primer anticuerpo por su unión al antígeno. El segundo anticuerpo puede estar presente en un sobrenadante de hibridoma. Como control, se incubaba el antígeno inmovilizado en una solución que comprende el primer anticuerpo marcado, pero no el segundo anticuerpo no marcado. Después de la incubación en condiciones que permitan la unión del primer anticuerpo al antígeno, se retira el anticuerpo en exceso no unido, y se mide la cantidad de marcador asociado con el antígeno inmovilizado. Si la cantidad de marcador asociado con el antígeno inmovilizado se reduce sustancialmente en la muestra de prueba en relación con la muestra de control, entonces, eso indica que el segundo anticuerpo está compitiendo con el primer anticuerpo por su unión al antígeno. Véase Harlow y Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, capítulo 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

Las inmunocitocinas preparadas como se describe en el presente documento se pueden purificar por técnicas conocidas en la técnica, tales como cromatografía de líquidos de alto rendimiento, cromatografía de intercambio iónico, electroforesis en gel, cromatografía de afinidad, cromatografía de exclusión por tamaño y similares. Las condiciones reales usadas para purificar una proteína particular dependerán, en parte, de factores tales como carga neta, hidrofobia, hidrofilia, etc., y serán evidentes para los expertos en la técnica. Para la purificación por cromatografía de afinidad se puede usar un anticuerpo, ligando, receptor o antígeno al que se une la inmunocitocina. Por ejemplo, para la purificación por cromatografía de afinidad de inmunocitocinas, se puede usar una matriz con proteína A o proteína G. Se pueden usar cromatografía de afinidad con proteína A o G secuencial y cromatografía de exclusión por tamaño para aislar una inmunocitocina esencialmente como se describe en los ejemplos del documento WO 2012/146628. La pureza de la inmunocitocina se puede determinar por cualquiera de una variedad

de procedimientos analíticos bien conocidos que incluyen electroforesis en gel, cromatografía de líquidos de alta presión y similares. Por ejemplo, las inmunocitocinas pueden demostrar que están intactas y apropiadamente ensambladas, como se demuestra por SDS-PAGE reductora.

- 5 Las inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a tumor descritas en el presente documento, tales como las inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a CEA y las inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a FAP, se pueden preparar como se describe en los ejemplos de los documentos WO 2012/146628 y WO 2012/107417.

Los anticuerpos descritos en el presente documento se producen preferentemente por medios recombinantes. Dichos procedimientos son ampliamente conocidos en el estado de la técnica y comprenden la expresión de proteínas en células procariotas y eucariotas con aislamiento posterior del polipéptido de anticuerpo y normalmente la purificación a una pureza farmacéuticamente aceptable. Para la expresión de proteínas, los ácidos nucleicos que codifican cadenas ligeras y pesadas o fragmentos de los mismos se insertan en vectores de expresión por procedimientos estándar. La expresión se realiza en células huésped procariotas o eucariotas apropiadas, tales como células CHO, células NS0, células SP2/0, células HEK293, células COS, levaduras o células de *E. coli*, y el anticuerpo se recupera de las células (del sobrenadante o después de la lisis de las células).

La producción recombinante de anticuerpos es bien conocida en el estado de la técnica y se describe, por ejemplo, en los artículos de revisión de Makrides, S.C., *Protein Expr. Purif.* 17 (1999) 183-202; Geisse, S., *et al.* *Protein Expr. Purif.* 8 (1996) 271-282; Kaufman, R.J., *Mol. Biotechnol.* 16 (2000) 151-161; Werner, R.G., *Drug Res.* 48 (1998) 870-880.

Los anticuerpos pueden estar presentes en células completas, en un lisado celular o en una forma parcialmente purificada o sustancialmente pura. La purificación se realiza para eliminar otros componentes celulares u otros contaminantes, por ejemplo, otros ácidos nucleicos o proteínas celulares, por técnicas estándar, incluyendo tratamiento alcalino/con SDS, bandeado de CsCl, cromatografía en columna, electroforesis en gel de agarosa y otras bien conocidas en la técnica. Véase Ausubel, F., *et al.*, ed. *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing and Wiley Interscience, Nueva York (1987).

La expresión en células NS0 se describe, por ejemplo, por Barnes, L.M., *et al.*, *Cytotechnology* 32 (2000) 109-123; Barnes, L.M., *et al.*, *Biotech. Bioeng.* 73 (2001) 261-270. La expresión transitoria se describe, por ejemplo, por Durocher, Y., *et al.*, *Nucl. Acids. Res.* 30 (2002) E9. La clonación de dominios variables se describe por Orlandi, R., *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86 (1989) 3833-3837; Carter, P., *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89 (1992) 4285-4289; Norderhaug, L., *et al.*, *J. Immunol. Methods* 204 (1997) 77-87. Un sistema de expresión transitoria preferente (HEK 293) se describe por Schlaeger, E.-J. y Christensen, K., en *Cytotechnology* 30 (1999) 71-83, y por Schlaeger, E.-J., en *J. Immunol. Methods* 194 (1996) 191-199.

Los dominios variables de la cadena pesada y ligera de acuerdo con la invención se combinan con secuencias de promotor, iniciación de la traducción, región constante, región no traducida en 3', poliadenilación y terminación de la transcripción para formar construcciones de vectores de expresión. Las construcciones de expresión de la cadena pesada y ligera se pueden combinar en un vector individual, cotransfectar, transfectar en serie o transfectar por separado en células huésped que, a continuación, se fusionan para formar una célula huésped individual que exprese ambas cadenas.

Las secuencias de control que son adecuadas para las procariotas, por ejemplo, incluyen un promotor, opcionalmente una secuencia de operador y un sitio de unión a ribosoma. Es conocido que las células eucariotas utilizan promotores, potenciadores y señales de poliadenilación.

El ácido nucleico está "enlazado de forma funcional" cuando se dispone en una relación funcional con otra secuencia de ácido nucleico. Por ejemplo, el ADN para una presecuencia o líder secretor está enlazado de forma funcional al ADN para un polipéptido si se expresa como una preproteína que participa en la secreción del polipéptido; un promotor o potenciador está enlazado de forma funcional a una secuencia codificante si afecta a la transcripción de la secuencia; o un sitio de unión a ribosoma está enlazado de forma funcional a una secuencia codificante si se sitúa para que facilite la traducción. En general, "enlazado de forma funcional" significa que las secuencias de ADN que están enlazadas son contiguas y, en el caso de un líder secretor, contiguas y en marco de lectura. Sin embargo, los potenciadores no tienen que ser contiguos. El enlace se consigue por fijación en sitios de restricción convenientes. Si no existen dichos sitios, se usan los adaptadores o conectores de oligonucleótidos sintéticos de acuerdo con la práctica convencional.

Los anticuerpos monoclonales se separan adecuadamente del medio de cultivo por procedimientos de purificación de inmunoglobulinas convencionales, tales como, por ejemplo, proteína A-sefarosa, cromatografía con hidroxilapatita, electroforesis en gel, diálisis o cromatografía de afinidad. El ADN y ARN que codifican los anticuerpos monoclonales se aíslan y secuencian fácilmente usando procedimientos convencionales. Las células de hibridoma pueden servir como fuente de dichos ADN y ARN. Una vez aislado, el ADN se puede insertar en vectores de expresión, que, a continuación, se transfectan en células huésped tales como células HEK 293, células CHO o células de mieloma que de otro modo no producen proteína inmunoglobulina, para obtener la síntesis de anticuerpos

monoclonales recombinantes en las células huésped.

Como se usa en el presente documento, las expresiones "célula", "línea celular" y "cultivo celular" se usan de manera intercambiable y todas dichas designaciones incluyen la descendencia. Por tanto, las palabras "transformantes" y "células transformadas" incluyen la célula objeto primaria y los cultivos derivados de la misma, sin tener en cuenta el número de transferencias. También se entiende que toda la descendencia puede no ser precisamente idéntica en el contenido de ADN, debido a mutaciones deliberadas o accidentales. Se incluye la descendencia variante que tiene la misma función o actividad biológica que la cribada en la célula transformada originalmente.

### Composiciones y procedimientos terapéuticos

Un aspecto de la divulgación se refiere a un procedimiento para el tratamiento de un paciente que necesita tratamiento, caracterizado por administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la politerapia de una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano de acuerdo con la invención.

La invención comprende el uso de una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano de acuerdo con la invención para la politerapia descrita.

Un aspecto preferente de la invención es la politerapia de una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano de la presente invención para su uso en el tratamiento del cáncer o tumor.

Por tanto, un aspecto de la invención es una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor descrita en el presente documento para su uso en el tratamiento del cáncer o tumor en combinación con un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento.

Otro aspecto de la invención es un anticuerpo anti-PD-L1 descrito en el presente documento para su uso en el tratamiento del cáncer o tumor en combinación con una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento.

La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor puede ser una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA o una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP de acuerdo con la invención como se describe en el presente documento.

El cáncer o tumor puede presentar un antígeno en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales. La diana de la politerapia se puede presentar en células tumorales o en el entorno de células tumorales. El cáncer o tumor puede expresar o sobreexpresar CEA o FAP. El tratamiento puede ser de un tumor sólido. El tumor sólido puede expresar o sobreexpresar CEA o FAP. El tratamiento puede ser de un carcinoma. El carcinoma puede expresar o sobreexpresar CEA o FAP. El cáncer se puede seleccionar del grupo que consiste en cáncer colorrectal, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de mama, cáncer pancreático, cáncer de hígado y cáncer gástrico. El cáncer se puede seleccionar del grupo que consiste en cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer gástrico, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de piel, cáncer de hígado, cáncer de riñón, cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer de cerebro y cáncer de músculo esquelético.

El término "cáncer" como se usa en el presente documento puede ser, por ejemplo, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón no microcítico (CPNM), cáncer de pulmón de tipo bronquioloalveolar, cáncer de huesos, cáncer pancreático, cáncer de piel, cáncer de cabeza o cuello, melanoma cutáneo o intraocular, cáncer uterino, cáncer ovárico, cáncer rectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer gástrico, cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer uterino, carcinoma de las trompas de Falopio, carcinoma de endometrio, carcinoma de cuello uterino, carcinoma de vagina, carcinoma de vulva, enfermedad de Hodgkin, cáncer de esófago, cáncer del intestino delgado, cáncer del sistema endocrino, cáncer de la glándula tiroidea, cáncer de la glándula paratiroidea, cáncer de la glándula suprarrenal, sarcoma de partes blandas, cáncer de uretra, cáncer de pene, cáncer de próstata, cáncer de vejiga, cáncer de riñón o uréter, carcinoma de células renales, carcinoma de la pelvis renal, mesotelioma, cáncer hepatocelular, cáncer biliar, neoplasias del sistema nervioso central (SNC), tumores de la médula espinal, glioma del tronco encefálico, glioblastoma multiforme, astrocitomas, schwannomas, ependimomas, meduloblastomas, meningiomas, carcinomas de células escamosas, adenoma hipofisario, linfoma, leucemia linfocítica, incluyendo las versiones resistentes al tratamiento de cualquiera de los cánceres anteriores o una combinación de uno o más de los cánceres anteriores. En un aspecto preferente de la invención, dicho cáncer es un cáncer de mama, cáncer colorrectal, melanoma, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de pulmón o cáncer de próstata. En un aspecto preferente de la invención, dicho cáncer es un cáncer de mama, cáncer ovárico, cáncer cervical, cáncer de pulmón o cáncer de próstata. En otro aspecto preferente de la invención, dicho cáncer es cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer ovárico, cáncer de melanoma, cáncer de vejiga, cáncer renal, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de cabeza y cuello, cáncer colorrectal, cáncer pancreático, cáncer de carcinoma gástrico, cáncer esofágico, mesotelioma, cáncer de próstata, leucemia, linfoma, mielomas. En un aspecto preferente de la invención, dichos

cánceres se caracterizan además por la expresión o sobreexpresión de CEA o FAP.

Un aspecto de la invención es una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento en combinación con un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento para su uso en el tratamiento de cualquiera de los cánceres o tumores descritos anteriormente.

Otro aspecto de la invención es un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento en combinación con una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento para su uso en el tratamiento de cualquiera de los cánceres o tumores descritos anteriormente.

La invención comprende la politerapia con una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento con un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento para el tratamiento del cáncer.

La invención comprende la politerapia con una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento con un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento para la prevención o tratamiento de metástasis.

La invención comprende la politerapia de una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento con un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento para el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

La invención comprende la politerapia de una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento con un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento para su uso en el tratamiento o retraso de la progresión de una enfermedad relacionada con el sistema inmunitario, tal como inmunidad tumoral.

La invención comprende la politerapia de una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento con un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento para su uso en la estimulación de una respuesta o función inmunitaria, tal como la actividad de los linfocitos T.

Un aspecto de la divulgación se refiere a un procedimiento para el tratamiento del cáncer en un paciente que lo necesita, caracterizado por administrar al paciente una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento y un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento.

Un aspecto de la divulgación se refiere a un procedimiento para la prevención o tratamiento de metástasis en un paciente que lo necesita, caracterizado por administrar al paciente una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento y un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento.

Un aspecto de la divulgación se refiere a un procedimiento para el tratamiento de enfermedades inflamatorias en un paciente que lo necesita, caracterizado por administrar al paciente una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento y un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento.

Un aspecto de la divulgación se refiere a un procedimiento para tratar o retrasar la progresión de una enfermedad relacionada con el sistema inmunitario, tal como inmunidad tumoral, en un paciente que lo necesita, caracterizado por administrar al paciente una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento y un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento.

Un aspecto de la divulgación se refiere a un procedimiento para estimular una respuesta o función inmunitaria, tal como la actividad de los linfocitos T, en un paciente que lo necesita, caracterizado por administrar al paciente una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento y un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento.

Un aspecto de la divulgación se refiere a una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento para su uso en el tratamiento del cáncer en combinación con un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento, o, de forma alternativa, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer en combinación con un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento.

La invención comprende una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento para su uso en la prevención o tratamiento de metástasis en combinación con un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento, o, de forma alternativa, para la fabricación de un medicamento para la prevención o tratamiento de metástasis en combinación con un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento.

5 La invención comprende una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento para su uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias en combinación con un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento, o, de forma alternativa, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades inflamatorias en combinación con un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento.

10 La invención comprende una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento para su uso en el tratamiento o retraso de la progresión de una enfermedad relacionada con el sistema inmunitario, tal como inmunidad tumoral, en combinación con un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento, o, de forma alternativa, para la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento o retraso de la progresión de una enfermedad relacionada con el sistema inmunitario, tal como inmunidad tumoral, en combinación con un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento.

15 La invención comprende una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento para su uso en la estimulación de una respuesta o función inmunitaria, tal como la actividad de los linfocitos T, en combinación con un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento, o, de forma alternativa, para la fabricación de un medicamento para su uso en la estimulación de una respuesta o función inmunitaria, tal como la actividad de los linfocitos T, en combinación con un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento.

20 La invención comprende un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento para su uso en el tratamiento del cáncer en combinación con una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento, o, de forma alternativa, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer en combinación con una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento.

25 La invención comprende un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento para su uso en la prevención o tratamiento de metástasis en combinación con una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento, o, de forma alternativa, para la fabricación de un medicamento para la prevención o tratamiento de metástasis en combinación con una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento.

30 La invención comprende un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento para su uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias en combinación con una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento, o, de forma alternativa, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades inflamatorias en combinación con una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento.

35 La invención comprende un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento para su uso en el tratamiento o retraso de la progresión de una enfermedad relacionada con el sistema inmunitario, tal como inmunidad tumoral, en combinación con una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento, o, de forma alternativa, para la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento o retraso de la progresión de una enfermedad relacionada con el sistema inmunitario, tal como inmunidad tumoral, en combinación con una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento.

40 La invención comprende un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento para su uso en la estimulación de una respuesta o función inmunitaria, tal como la actividad de los linfocitos T, en combinación con una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento, o, de forma alternativa, para la fabricación de un medicamento para su uso en la estimulación de una respuesta o función inmunitaria, tal como la actividad de los linfocitos T, en combinación con una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento.

45 En un aspecto preferente de la invención, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en los tratamientos de combinación descritos anteriormente y usos médicos de diferentes enfermedades es una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA caracterizada por comprender

50 las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88, y

60 el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en dichos tratamientos de combinación se caracteriza por comprender

65 un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92.

En un aspecto preferente de la invención, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en los

tratamientos de combinación descritos anteriormente y usos médicos de diferentes enfermedades es una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP caracterizada por comprender

5 las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81, y

el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en dichos tratamientos de combinación se caracteriza por comprender

10 un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición, por ejemplo, una composición farmacéutica, que contiene una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento y un anticuerpo que se une a PD-L1 humano, o la porción de unión a antígeno del mismo, como se describe en el presente documento formulada conjuntamente con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15 Como se usa en el presente documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y de retraso de la absorción/reabsorción, y similares, que sean fisiológicamente compatibles. Preferentemente, el vehículo es adecuado para su inyección o infusión.

Una composición de la presente invención se puede administrar por una variedad de procedimientos conocidos en la técnica. Como se apreciará por el experto en la técnica, la vía y/o modo de administración variarán dependiendo de los resultados deseados.

25 Los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación de soluciones o dispersiones inyectables estériles. El uso de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es conocido en la técnica. Además de agua, el vehículo puede ser, por ejemplo, una solución salina tamponada isotónica.

30 Independientemente de la vía de administración seleccionada, los compuestos de la presente invención, que se pueden usar en una forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas farmacéuticas farmacéuticamente aceptables por procedimientos convencionales conocidos por los expertos en la técnica.

35 Se pueden variar los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición y modo de administración particulares, sin ser tóxicos para el paciente (cantidad eficaz). El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores farmacocinéticos, incluyendo la actividad de las composiciones particulares de la presente invención empleadas, o el éster, sal o amida de las mismas, la vía de administración, el momento de administración, la tasa de excreción del compuesto particular que se emplea, otros fármacos, compuestos y/o materiales usados en combinación con las composiciones particulares empleadas, la edad, sexo, peso, condición, salud general y antecedentes médicos anteriores del paciente que se está tratando, y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

45 En un aspecto, la invención proporciona un kit pretendido para el tratamiento de una enfermedad, que comprende en el mismo recipiente o en recipientes separados (a) una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento, y (b) un anticuerpo que se une a PD-L1 humano como se describe en el presente documento, y opcionalmente que comprende además (c) un prospecto del envase que comprende instrucciones impresas que dirigen el uso del tratamiento combinado como un procedimiento para tratar la enfermedad. Además, el kit puede comprender (a) un primer recipiente con una composición contenida en el mismo, en el que la composición comprende un anticuerpo que se une a PD-L1 humano como se describe en el presente documento; (b) un segundo recipiente con una composición contenida en el mismo, en el que la composición comprende una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento; y (c) un tercer recipiente con una composición contenida en el mismo, en el que la composición comprende otro agente citotóxico o de otro modo terapéutico. El kit en este aspecto de la invención puede comprender además un prospecto del envase que indica que las composiciones se pueden usar para tratar una afección particular. De forma alternativa, o adicionalmente, el kit puede comprender además un tercer (o cuarto) recipiente que comprenda un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyectables (BWF1), solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y del usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringuillas.

60 En un aspecto, la invención proporciona un kit pretendido para el tratamiento de una enfermedad, que comprende (a) un recipiente que comprende una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento, y (b) un prospecto del envase que comprende instrucciones que dirigen el uso de la

inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en una politerapia con un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento como un procedimiento para tratar la enfermedad.

5 En otro aspecto, la invención proporciona un kit pretendido para el tratamiento de una enfermedad, que comprende (a) un recipiente que comprende un anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento, y (b) un prospecto del envase que comprende instrucciones que dirigen el uso del anticuerpo anti-PD-L1 en una politerapia con una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento como un procedimiento para tratar la enfermedad.

10 En otro aspecto, la invención proporciona un medicamento pretendido para el tratamiento de una enfermedad, que comprende una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento, en la que dicho medicamento es para su uso en una politerapia con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano como se describe en el presente documento y opcionalmente comprende un prospecto del envase que comprende instrucciones impresas que dirigen el uso del tratamiento combinado como un procedimiento para tratar la enfermedad.

15 Todavía en otro aspecto, la invención proporciona un medicamento pretendido para el tratamiento de una enfermedad, que comprende un anticuerpo que se une a PD-L1 humano como se describe en el presente documento, en la que dicho medicamento es para su uso en una politerapia con una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento y opcionalmente comprende un prospecto del envase que comprende instrucciones impresas que dirigen el uso del tratamiento combinado como un procedimiento para tratar la enfermedad.

20 La expresión "un procedimiento de tratamiento", o su equivalente, cuando se aplica, por ejemplo, al cáncer, se refiere a un procedimiento o modo de acción que está diseñado para reducir o eliminar el número de células cancerosas en un paciente o para aliviar los síntomas de un cáncer. "Un procedimiento de tratamiento" del cáncer u otro trastorno proliferativo no significa necesariamente que las células cancerosas u otro trastorno, de hecho, se eliminarán, que el número de células o trastorno, de hecho, se reducirán o que los síntomas de un cáncer u otro trastorno, de hecho, se aliviarán. A menudo, un procedimiento de tratamiento del cáncer se realizará incluso con una baja probabilidad de éxito, pero, dados los antecedentes médicos y la expectativa de supervivencia estimada de un paciente, se considera, no obstante, que induce un modo de acción beneficioso global.

25 Las expresiones "administrada en combinación con" o "coadministración", "coadministrar", "politerapia" o "tratamiento de combinación" se refieren a la administración de la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento y el anticuerpo que se une a PD-L1 humano como se describe en el presente documento, por ejemplo, como formulaciones/aplicaciones separadas (o como una formulación/aplicación individual). La coadministración puede ser simultánea o secuencial en cualquier orden, en la que preferentemente existe un periodo de tiempo durante el que ambos (o todos los) agentes activos ejercen simultáneamente sus actividades biológicas. Dichos agentes activos se coadministran simultánea o bien secuencialmente (por ejemplo, por vía intravenosa (i.v.) a través de una infusión continua. Cuando ambos agentes terapéuticos se coadministran secuencialmente, la dosis se administra el mismo día en dos administraciones separadas o bien uno de los agentes se administra el día 1 y el segundo se coadministra del día 2 al día 7, preferentemente del día 2 al 4. Por tanto, en un aspecto de la invención, el término "secuencialmente" significa dentro de los 7 días después de la dosis del primer componente, preferentemente dentro de los 4 días después de la dosis del primer componente; y el término "simultáneamente" significa al mismo tiempo. El término "coadministración" con respecto a las dosis de mantenimiento de la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor y/o anticuerpo anti-PD-L1 significa que las dosis de mantenimiento se pueden coadministrar simultáneamente, si el ciclo de tratamiento es apropiado para ambos fármacos, por ejemplo, cada semana. O bien que las dosis de mantenimiento se coadministran secuencialmente, por ejemplo, se administran las dosis de inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor y anticuerpo anti-PD-L1 en semanas alternas.

30 Es evidente que los anticuerpos se administran al paciente en una "cantidad terapéuticamente eficaz" (o simplemente "cantidad eficaz") que es la cantidad del respectivo compuesto o combinación que provocará la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, animal o ser humano que se busca por el investigador, veterinario, médico u otro facultativo.

35 La cantidad de coadministración y el momento de la coadministración dependerán del tipo (especie, sexo, edad, peso, etc.) y condición del paciente que se está tratando y la gravedad de la enfermedad o afección que se está tratando. Dicha inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor y/o anticuerpo anti-PD-L1 se coadministran adecuadamente al paciente de una vez o durante una serie de tratamientos, por ejemplo, el mismo día o el día siguiente o a intervalos semanales.

40 Por ejemplo, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor y/o anticuerpo anti-PD-L1 se pueden coadministrar simultáneamente en la semana 1 con dosis de mantenimiento de inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor y anticuerpo anti-PD-L1 alternando una semana sí otra no, por ejemplo, comenzando con la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor, por ejemplo, durante 3 semanas. Por ejemplo, la inmunocitocina

de variante de IL-2 dirigida a tumor y/o anticuerpo anti-PD-L1 se pueden coadministrar simultáneamente en la semana 1 con dosis de mantenimiento de inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor y anticuerpo anti-PD-L1 coadministrados simultáneamente, por ejemplo, cada semana, por ejemplo, durante un tiempo de tratamiento total, por ejemplo, de 2 semanas. Por ejemplo, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor y/o anticuerpo anti-PD-L1 se pueden coadministrar simultáneamente en la semana 1 con dosis de mantenimiento de inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor y anticuerpo anti-PD-L1 coadministrados simultáneamente, por ejemplo, cada semana, por ejemplo, durante un tiempo de tratamiento total, por ejemplo, de 5 semanas (lo que también se puede describir como una pauta de tratamiento de la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor y el anticuerpo anti-PD-L1 coadministrados simultáneamente una vez por semana durante 5 semanas). En un aspecto de la invención, la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor se administra una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas o una vez cada cuatro semanas. En un aspecto de la invención, el anticuerpo anti-PD-L1 se administra una vez cada dos semanas o una vez cada tres semanas. En un aspecto de la invención, las primeras administraciones de la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor y el anticuerpo anti-PD-L1 se realizan secuencialmente el primer día de un ciclo de tratamiento.

Dependiendo del tipo y gravedad de la enfermedad, de aproximadamente 0,1 mg/kg a 50 mg/kg (por ejemplo, 0,1-20 mg/kg) de dicha inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor y/o anticuerpo anti-PD-L1 es una dosificación candidata inicial para la coadministración de ambos fármacos al paciente. Además, la dosificación de dicha inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor y/o anticuerpo anti-PD-L1 puede ser una dosis fijada fija independientemente del peso del paciente. Por ejemplo, se puede seleccionar una dosis máxima de 1 mg/kg o 40 mg fija; una dosis de partida de 10 mg fija, una vez por semana o una semana sí otra no o 0,05-0,5 mg/kg una vez por semana o una semana sí otra no para la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor. En un aspecto de la invención, se administra una dosis fijada fija de 5 a 50 mg, por ejemplo, 5 mg, 6 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg, 25 mg, 30 mg, 35 mg, 40 mg, 45 mg o 50 mg de inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor cada dos semanas, cada tres semanas o cada cuatro semanas. Por ejemplo, una dosis máxima de 20 mg/kg cada tres semanas; si se reduce a 10 mg/kg se puede seleccionar para el anticuerpo anti-PD-L1. En un aspecto de la invención, se administra una dosis fijada fija de 800 mg de anticuerpo anti-PD-L1 cada dos semanas. En otro aspecto de la invención, se administra una dosis fijada fija de 1200 mg de anticuerpo anti-PD-L1 cada tres semanas. La invención comprende el uso de la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor y el anticuerpo anti-PD-L1 de acuerdo con la invención para el tratamiento de un paciente que padece cáncer, por ejemplo, cáncer colorrectal, de hígado o pancreático.

Además de la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con el anticuerpo anti-PD-L1 también se puede administrar un agente quimioterápico.

En un aspecto de la invención, dichos agentes quimioterápicos adicionales, que se pueden administrar con inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor como se describe en el presente documento y el anticuerpo anti-PD-L1 como se describe en el presente documento, incluyen, pero no se limitan a, agentes antineoplásicos que incluyen agentes alquilantes que incluyen: mostazas nitrogenadas, tales como mecloretamina, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalán y clorambucilo; nitrosoureas, tales como carmustina (BCNU), lomustina (CCNU) y semustina (metil-CCNU); Temodal (TM) (temozolamida), etileniminas/metilmelamina, tales como trietilenmelamina (TEM), trietileno, tiofosforamida (tiotepa), hexametilmelamina (HMM, altretamina); sulfonatos de alquilo, tales como busulfano; triazinas, tales como dacarbacina (DTIC); antimetabolitos, que incluyen análogos de ácido fólico, tales como metotrexato y trimetrexato, análogos de pirimidina, tales como 5-fluorouracilo (5FU), fluorodesoxiuridina, gemcitabina, arabinósido de citosina (AraC, citarabina), 5-azacitidina, 2,2'-difluorodesoxicidina, análogos de purina, tales como 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, azatioprina, T-desoxicoformicina (pentostatina), eritrohidroxiniladenina (EHNA), fosfato de fludarabina y 2-clorodesoxiadenosina (cladribina, 2-CdA); productos naturales que incluyen fármacos antimetabólicos, tales como paclitaxel, alcaloides de la vinca, incluyendo vinblastina (VLB), vincristina y vinorelbina, taxotere, estramustina y fosfato de estramustina; pipodofilotoxinas, tales como etopósido y tenipósido; antibióticos, tales como actinomicina D, daunomicina (rubidomicina), doxorubicina, mitoxantrona, idarubicina, bleomicinas, plicamicina (mitramicina), mitomicina C y actinomicina; enzimas, tales como L-asparaginasa; modificadores de respuestas biológicas, tales como interferón alfa, IL-2, G-CSF y GM-CSF; agentes diversos que incluyen complejos de coordinación de platino, tales como oxaliplatino, cisplatino y carboplatino, antracenedionas, tales como mitoxantrona, urea sustituida, tal como hidroxiourea, derivados de metilhidracina que incluyen N-metilhidracina (MIH) y procarbicina, depresores corticosuprarrenales, tales como mitotano (o, p-DDD) y aminoglutetimida; hormonas y antagonistas que incluyen antagonistas de adrenocorticoesteroides, tales como prednisona y equivalentes, dexametasona y aminoglutetimida; Gemzar (TM) (gemcitabina), progestina, tal como caproato de hidroxiprogesterona, acetato de medroxiprogesterona y acetato de megestrol; estrógenos, tales como dietilestilbestrol y equivalentes de etinilestradiol; antiestrógenos, tales como tamoxifeno; andrógenos que incluyen propionato de testosterona y equivalentes de fluoximesterona; antiandrógenos, tales como flutamida, análogos de hormona liberadora de gonadotropinas y leuprorrelina; y antiandrógenos no esteroideos, tales como flutamida. Los tratamientos de direccionamiento hacia el mecanismo epigenético incluyendo, pero sin limitarse a, inhibidores de histona desacetilasa, agentes desmetilantes (por ejemplo, Vidaza) y los tratamientos de liberación de represión transcripcional (ATRA) también se pueden combinar con las proteínas de unión a antígeno. En un aspecto de la invención, el agente quimioterápico se selecciona del grupo que consiste en taxanos (como, por ejemplo, paclitaxel (Taxol), docetaxel (Taxotere), paclitaxel modificado (por ejemplo, Abraxane y Opaxio), doxorubicina, sunitinib

(Sutent), sorafenib (Nexavar) y otros inhibidores multincinasas, oxaliplatino, cisplatino y carboplatino, etopósido, gemcitabina y vinblastina. En un aspecto de la invención, el agente quimioterápico se selecciona del grupo que consiste en taxanos (como, por ejemplo, taxol (paclitaxel), docetaxel (Taxotere), paclitaxel modificado (por ejemplo, Abraxane y Opaxio). En un aspecto de la invención, el agente quimioterápico adicional se selecciona de 5-fluorouracilo (5-FU), ácido folínico, irinotecán u oxaliplatino. En un aspecto de la invención, el agente quimioterápico es 5-fluorouracilo, ácido folínico e irinotecán (FOLFIRI). En un aspecto de la invención, el agente quimioterápico es 5-fluorouracilo y oxaliplatino (FOLFOX).

Los ejemplos específicos de politerapias con agentes quimioterápicos adicionales incluyen, por ejemplo, tratamientos con taxanos (por ejemplo, docetaxel o paclitaxel) o un paclitaxel modificado (por ejemplo, Abraxane u Opaxio), doxorubicina, capecitabina y/o bevacizumab (Avastin) para el tratamiento del cáncer de mama; tratamientos con carboplatino, oxaliplatino, cisplatino, paclitaxel, doxorubicina (o doxorubicina modificada (Caelyx o Doxil)) o topotecán (Hycamtin) para el cáncer ovárico, los tratamientos con un inhibidor multincinasa, MKI, (Sutent, Nexavar o 706) y/o doxorubicina para el tratamiento del cáncer de riñón; tratamientos con oxaliplatino, cisplatino y/o radiación para el tratamiento del carcinoma de células escamosas; tratamientos con taxol y/o carboplatino para el tratamiento del cáncer de pulmón.

Por lo tanto, en un aspecto de la invención, el agente quimioterápico adicional se selecciona del grupo de taxanos (docetaxel o paclitaxel o un paclitaxel modificado (Abraxane u Opaxio), doxorubicina, capecitabina y/o bevacizumab para el tratamiento del cáncer de mama.

En un aspecto de la invención, la politerapia de inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor/anticuerpo PD-L1 es una en la que no se administra ningún agente quimioterápico.

Un aspecto de la divulgación se refiere a un procedimiento para el tratamiento de un paciente que padece dicha enfermedad como se describe en el presente documento.

La invención proporciona además un procedimiento para la fabricación de una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor de acuerdo con la invención como se describe en el presente documento y un anticuerpo anti-PD-L1 de acuerdo con la invención como se describe en el presente documento conjuntamente con un vehículo farmacéuticamente aceptable y el uso de la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor y el anticuerpo anti-PD-L1 de acuerdo con la invención como se describe en el presente documento para dicho procedimiento.

La invención proporciona además el uso de una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor de acuerdo con la invención como se describe en el presente documento y un anticuerpo anti-PD-L1 de acuerdo con la invención como se describe en el presente documento en una cantidad eficaz para la fabricación de un agente farmacéutico, preferentemente conjuntamente con un vehículo farmacéuticamente aceptable, para el tratamiento de un paciente que padece cáncer.

Se proporcionan los siguientes ejemplos, listado de secuencias y figuras para ayudar a entender la presente invención, exponiéndose su verdadero alcance en las reivindicaciones adjuntas. Se entiende que se pueden realizar modificaciones en los procedimientos expuestos sin apartarse del espíritu de la invención.

#### 45 **Descripción de las secuencias**

SEQ ID NO: 1	región Fc de IgG1 humana ejemplar
SEQ ID NO: 2	IL-2 humana (C125 A)
SEQ ID NO: 3	IL-2 humana mutante cuádruple (IL-2 qm)
SEQ ID NO: 4	PD-L1 humano (incluyendo la secuencia señal)
SEQ ID NO: 5	dominio variable de la cadena ligera, Mab 3F2
SEQ ID NO: 6	dominio variable de la cadena ligera, Mab 3F2 (YS)
SEQ ID NO: 7	dominio variable de la cadena pesada, Mab 3F2
SEQ ID NO: 8	dominio variable de la cadena ligera, Mab 3D9
SEQ ID NO: 9	dominio variable de la cadena pesada, Mab 3D9
SEQ ID NO: 10	dominio variable de la cadena pesada, Mab 3D9 (TA)

## ES 2 774 380 T3

	SEQ ID NO: 11	dominio variable de la cadena ligera, Mab 4G8
	SEQ ID NO: 12	dominio variable de la cadena pesada, Mab 4G8
5	SEQ ID NO: 13	dominio variable de la cadena ligera, Mab 4B3
	SEQ ID NO: 14	dominio variable de la cadena pesada, Mab 4B3
	SEQ ID NO: 15	dominio variable de la cadena ligera, Mab 4D6
10	SEQ ID NO: 16	dominio variable de la cadena pesada, Mab 4D6
	SEQ ID NO: 17	dominio variable de la cadena ligera, Mab 2C6
15	SEQ ID NO: 18	dominio variable de la cadena pesada, Mab 2C6
	SEQ ID NO: 19	dominio variable de la cadena ligera, Mab 5H5
	SEQ ID NO: 20	dominio variable de la cadena pesada, Mab 5H5
20	SEQ ID NO: 21	dominio variable de la cadena ligera, Mab 2C4
	SEQ ID NO: 22	dominio variable de la cadena pesada, Mab 2C4
25	SEQ ID NO: 23	dominio variable de la cadena ligera, Mab 2D9
	SEQ ID NO: 24	dominio variable de la cadena pesada, Mab 2D9
	SEQ ID NO: 25	dominio variable de la cadena ligera, Mab 4B8
30	SEQ ID NO: 26	dominio variable de la cadena pesada, Mab 4B8
	SEQ ID NO: 27	dominio variable de la cadena ligera, Mab 7A1
35	SEQ ID NO: 28	dominio variable de la cadena pesada, Mab 7A1
	SEQ ID NO: 29	dominio variable de la cadena ligera, Mab 13C2
	SEQ ID NO: 30	dominio variable de la cadena pesada, Mab 13C2
40	SEQ ID NO: 31	dominio variable de la cadena ligera, Mab 13E8
	SEQ ID NO: 32	dominio variable de la cadena pesada, Mab 13E8
45	SEQ ID NO: 33	dominio variable de la cadena ligera, Mab 14C10
	SEQ ID NO: 34	dominio variable de la cadena pesada, Mab 14C10
	SEQ ID NO: 35	dominio variable de la cadena ligera, Mab 17A11
50	SEQ ID NO: 36	dominio variable de la cadena pesada, Mab 17A11
	SEQ ID NO: 37	dominio variable de la cadena ligera, Mab 19G1
55	SEQ ID NO: 38	dominio variable de la cadena pesada, Mab 19G1
	SEQ ID NO: 39	dominio variable de la cadena ligera, Mab 20G8
	SEQ ID NO: 40	dominio variable de la cadena pesada, Mab 20G8
60	SEQ ID NO: 41	dominio variable de la cadena ligera, Mab 4B9
	SEQ ID NO: 42	dominio variable de la cadena pesada, Mab 4B9
65	SEQ ID NO: 43	dominio variable de la cadena ligera, Mab 5B8

## ES 2 774 380 T3

	SEQ ID NO: 44	dominio variable de la cadena pesada, Mab 5B8
	SEQ ID NO: 45	dominio variable de la cadena ligera, Mab 5F1
5	SEQ ID NO: 46	dominio variable de la cadena pesada, Mab 5F1
	SEQ ID NO: 47	dominio variable de la cadena ligera, Mab 14B3
	SEQ ID NO: 48	dominio variable de la cadena pesada, Mab 14B3
10	SEQ ID NO: 49	dominio variable de la cadena ligera, Mab 16F1
	SEQ ID NO: 50	dominio variable de la cadena pesada, Mab 16F1
15	SEQ ID NO: 51	dominio variable de la cadena ligera, Mab 16F8
	SEQ ID NO: 52	dominio variable de la cadena pesada, Mab 16F8
	SEQ ID NO: 53	dominio variable de la cadena ligera, Mab O3C9
20	SEQ ID NO: 54	dominio variable de la cadena pesada, Mab O3C9
	SEQ ID NO: 55	dominio variable de la cadena ligera, Mab O2D7
25	SEQ ID NO: 56	dominio variable de la cadena pesada, Mab O2D7
	SEQ ID NO: 57	dominio variable de la cadena ligera, Mab 28H1
	SEQ ID NO: 58	dominio variable de la cadena pesada, Mab 28H1
30	SEQ ID NO: 59	dominio variable de la cadena ligera, Mab 22A3
	SEQ ID NO: 60	dominio variable de la cadena pesada, Mab 22A3
35	SEQ ID NO: 61	dominio variable de la cadena ligera, Mab 29B11
	SEQ ID NO: 62	dominio variable de la cadena pesada, Mab 29B11
	SEQ ID NO: 63	dominio variable de la cadena ligera, Mab 23C10
40	SEQ ID NO: 64	dominio variable de la cadena pesada, Mab 23C10
	SEQ ID NO: 65	dominio variable de la cadena ligera, Mab CH1A1A 98/99 2F1
45	SEQ ID NO: 66	dominio variable de la cadena pesada, Mab CH1A1A 98/99 2F1
	SEQ ID NO: 67	dominio variable de la cadena ligera, Mab CH1A1A 98/99 2F1
	SEQ ID NO: 68	dominio variable de la cadena pesada, Mab CH1A1A 98/99 2F1
50	SEQ ID NO: 69	HC de Fab-botón en Fc (LALA P329G) de 28H1-IL-2 qm
	SEQ ID NO: 70	HC de Fab-botón en Fc (LALA P329G) de 4G8-IL-2 qm
55	SEQ ID NO: 71	HC de Fab-botón en Fc (LALA P329G) de 4B9-IL-2 qm
	SEQ ID NO: 72	HC de Fab-botón en Fc (LALA P329G) de 28H1-IL-2 qm (2)
	SEQ ID NO: 73	HC de Fab-botón en Fc (LALA P329G) de 4B9-IL-2 qm (2)
60	SEQ ID NO: 74	HC de Fab-ojal en Fc (LALA P329G) de 28H1
	SEQ ID NO: 75	HC de Fab-ojal en Fc (LALA P329G) de 4G8
65	SEQ ID NO: 76	HC de Fab-ojal en Fc (LALA P329G) de 4B9

## ES 2 774 380 T3

	SEQ ID NO: 77	LC de Fab de 4G8
	SEQ ID NO: 78	LC de Fab de 3F2
5	SEQ ID NO: 79	HC de Fab-botón en Fc (LALA P329G) de 4B9-IL-2 qm (2)
	SEQ ID NO: 80	HC de Fab-ojal en Fc (LALA P329G) de 4B9
	SEQ ID NO: 81	LC de Fab de 3F2
10	SEQ ID NO: 82	HC de Fab-botón en Fc (wt) de CH1A1A 98/99 2F1-IL-2 qm
	SEQ ID NO: 83	HC de Fab-botón en Fc (wt) de CH1A1A 98/99 2F1-IL-2 qm
15	SEQ ID NO: 84	HC de Fab-botón en Fc (LALA P329G) de CH1A1A 98/99 2F1-IL-2 qm
	SEQ ID NO: 85	HC de Fab-ojal en Fc (wt) de CH1A1A 98/99 2F1
	SEQ ID NO: 86	HC de Fab-ojal en Fc (LALA P329G) de CH1A1A 98/99 2F1
20	SEQ ID NO: 87	LC de Fab de CH1A1A 98/99 2F1
	SEQ ID NO: 88	LC de Fab de H1A1A 98/99 2F1
25	SEQ ID NO: 89	variante 1 del dominio variable de la cadena pesada VH, anti-PD-L1 243.55
	SEQ ID NO: 90	variante 2 del dominio variable de la cadena pesada VH, anti-PD-L1 243.55
	SEQ ID NO: 91	variante 3 del dominio variable de la cadena pesada VH, anti-PD-L1 243.55
30	SEQ ID NO: 92	variante 1 del dominio variable de la cadena ligera VL, anti-PD-L1 243.55
	SEQ ID NO: 93	variante 2 del dominio variable de la cadena ligera VL, anti-PD-L1 243.55
35	SEQ ID NO: 94	variante 3 del dominio variable de la cadena ligera VL, anti-PD-L1 243.55
	SEQ ID NO: 95	variante 4 del dominio variable de la cadena ligera VL, anti-PD-L1 243.55
	SEQ ID NO: 96	variante 5 del dominio variable de la cadena ligera VL, anti-PD-L1 243.55
40	SEQ ID NO: 97	variante 6 del dominio variable de la cadena ligera VL, anti-PD-L1 243.55
	SEQ ID NO: 98	variante 7 del dominio variable de la cadena ligera VL, anti-PD-L1 243.55
45	SEQ ID NO: 99	variante 8 del dominio variable de la cadena ligera VL, anti-PD-L1 243.55
	SEQ ID NO: 100	variante 9 del dominio variable de la cadena ligera VL, anti-PD-L1 243.55
	SEQ ID NO: 101	variante 10 del dominio variable de la cadena ligera VL, anti-PD-L1 243.55
50	SEQ ID NO: 102	variante 11 del dominio variable de la cadena ligera VL, anti-PD-L1 243.55
	SEQ ID NO: 103	variante 12 del dominio variable de la cadena ligera VL, anti-PD-L1 243.55
55	SEQ ID NO: 104	variante 13 del dominio variable de la cadena ligera VL, anti-PD-L1 243.55
	SEQ ID NO: 105	variante 14 del dominio variable de la cadena ligera VL, anti-PD-L1 243.55
	SEQ ID NO: 106	variante 15 del dominio variable de la cadena ligera VL, anti-PD-L1 243.55
60	SEQ ID NO: 107	variante 16 del dominio variable de la cadena ligera VL, anti-PD-L1 243.55
	SEQ ID NO: 108	HC-Fc (DD) de muCEA-muL2v
65	SEQ ID NO: 109	HC-Fc (KK) de muCEA

	SEQ ID NO: 110	LC de muCEA
	SEQ ID NO: 111	HC con DAPG de mulgG1 frente a PD-L1 YW243.55.S70
5	SEQ ID NO: 112	LC con DAPG de mulgG1 frente a PD-L1 YW243.55.S70
	SEQ ID NO: 113	región constante de la cadena ligera kappa humana
	SEQ ID NO: 114	región constante de la cadena pesada humana derivada de IgG1
10	SEQ ID NO: 115	secuencia líder
	SEQ ID NO: 116	secuencia líder
15	SEQ ID NO: 117	secuencia líder
	SEQ ID NO: 118	secuencia líder
	SEQ ID NO: 119	secuencia líder
20	SEQ ID NO: 120	secuencia líder
	SEQ ID NO: 121	secuencia líder
25	SEQ ID NO: 122	secuencia líder
	SEQ ID NO: 123	secuencia líder
	SEQ ID NO: 124	HC-Fc (DD) de muFAP-muLL2v
30	SEQ ID NO: 125	HC-Fc (KK) de muFAP
	SEQ ID NO: 126	LC de muFAP

35 **Ejemplos**

**Eficacia *in vivo* del inmunoc conjugado de IL2v dirigida frente a CEA en modelos singénicos de líneas celulares de tumor de ratón solo y en combinación con Mab anti-PD-L1.**

40 Se sometió a prueba el inmunoc conjugado de IL2v dirigida frente a CEA solo y en combinación con Mab frente a PD-L1 por su eficacia antitumoral en varios modelos singénicos.

**Materiales**

45 Las moléculas usadas en los estudios fueron como sigue. Se generó una molécula sustituta murinizada de la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA CEA-IL2v, denominada muCEA-muLL2v, para su uso en modelos de tumor *in vivo* en ratones completamente inmunosuficientes para reducir la formación de anticuerpos antifármaco (AAF). Además, se generó una versión quimérica murinizada de la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP FAP-IL2v, denominada muFAP-muLL2v, respectivamente, para su uso en modelos de tumor *in vivo* en ratones completamente inmunosuficientes para reducir la formación de anticuerpos antifármaco (AAF). En las moléculas sustitutas murinizadas, las mutaciones de botón en ojal en el dominio Fc se reemplazaron por mutaciones DDKK en mulgG1 y las mutaciones LALA P329G se reemplazaron por mutaciones DAPG en mulgG1.

55 Por ejemplo, muCEA-muLL2v se caracteriza por los siguientes rasgos característicos. Como anticuerpo original, se aplica un anticuerpo IgG1 quimérico humano-murino con regiones variables humanas (humanizadas), pero regiones constantes murinas. Para evitar la inmunogenicidad potencial, se usó el alotipo de Black 6 correspondiente (secuencia publicada por Mouse Genomes Project). Se anuló la unión a muLL2R $\alpha$  por tres mutaciones homólogas a las identificadas en IL-2v humana y se retiró el sitio de O-glucosilación respectivo: T23A (O-gluco), F76A, Y79A, L106G. Además, como en la aldesleucina, el residuo de cisteína se mutó para evitar la agregación por una mutación C160A (numeración en base a ID P04351 de UniProt, que incluye el péptido señal). Aunque mulgG1 ya tiene unión a Fc $\gamma$ R reducida, la unión a Fc $\gamma$ R murinos se anuló completamente por la introducción de mutaciones DAPG (D265A, P329G), mientras que la unión a muFcRn se retiene. Se fusionó muLL-2v por medio de un conector (G<sub>4</sub>S)<sub>2</sub> no inmunógeno solo al extremo C de una cadena pesada del anticuerpo mulgG1. Para lograr esto, se genomanipló la inmunocitocina usando conducción electrostática por medio de mutaciones DDKK en el dominio Fc para permitir la heterodimerización en el entorno del ratón.

65

Las secuencias de polipéptidos de muCEA-mull2v son como sigue:

Cadena pesada con mutación DD y con mull2v fusionada (SEQ ID NO: 108):

5 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKA SGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWM GWINTKTGEATYVEEFKGRVFTTDD  
TSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR WDFAYYVEAMDYWGQGTITVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAQAQTNMVTLG  
CLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPS QTVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDC  
GCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTI TLTPKVT CVVVAISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTTPREEQINSTRFSVS  
ELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFAGAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPTPPKE QMAKD KVS L TCMITNFFPEDITVEW  
10 QWNGQPAENYDNTQPIMDTDGSYFV YSDLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTTEKSLSHSPGGGGGGGGGGGS  
GGGGSAPASSSTSSSTAEEAQQQQQQQQQQHLEQLLMDLQELLSRMEN YRNKLPRLMTAKFALPKQATELKD  
LQCLEDELGPLRHVLDGTQSKSFQL EDAENFISNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDDDESATVVDFLRRWIAFAQSIHSTS  
PQ

15 Cadena pesada con mutación KK (SEQ ID NO: 109):

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWM GWINTKTGEATYVEEFKGRVFTTDDT  
STSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR WDFAYYVEAMDYWGQGTITVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAQAQTNMVTLG  
CLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPS QTVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCG  
20 CKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTI TLTPKVT CVVVAISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTTPREEQINSTRFSVS  
ELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFAGAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPTPPK QMAKD KVS L TCMITNFFPEDITVEW  
QWNGQPAENYKNTQPIMKTDGSYFV YSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTTEKSLSHSPGK

Cadena ligera (SEQ ID NO: 110):

25 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKAS AAVGTYVAWYQQKPKAPKLLIYSY SYRKRGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL  
QPEDFATYYCHQYTYPLFTFGQGT KLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSG GASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSE  
RQNGVLNSWTDQDSKDSYMSSTLTLTKEDEYERHNSYTCEATHKTTSTSPV KSFNRNEC

30 Las secuencias de polipéptidos de muFAP-mull2v son como sigue:

Cadena pesada con mutación DD y con mull2v fusionada (SEQ ID NO: 124):

35 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSA IIGSGASTYYADSVKGRFTISRDN SKN  
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGW FGGFNYWGQGLTVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAQAQTNMVTLGCLVKGYF  
PEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSQTVTCNV AHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICT  
VPEVSSVFIFPPKPKDVLTI TLTPKVT CVVVAISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTTPREEQINSTRFSVSELPIHQ  
DWLNGKEFKCRVNSAAFAGAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPTPPKEQMAKD VSLTCMITNFFPEDITVEWQWNGQP  
40 AENYDNTQPIMDTDGSYFVYSDLNV QKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTTEKSLSHSPGGGGGGGGGGGS  
APASSSTSSSTAEEAQQQQQQQQQQHLEQLLMDLQELLSRMENYRNKLPRLMTAKFALPKQATELKD LQCLEE  
ELGPLRHVLDGTQSKSFQLEDAENFI SNIRVTVVKLKGSDNTFECQFDDDESATVVDFLRRWIAFAQSIHSTS PQ

Cadena pesada con mutación KK (SEQ ID NO: 125):

45 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSA IIGSGASTYYADSVKGRFTISRDN SKN  
TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKGW FGGFNYWGQGLTVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAQAQTNMVTLGCLVKGYF  
PEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVPSSTWPSQTVTCNV AHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICT  
VPEVSSVFIFPPKPKDVLTI TLTPKVT CVVVAISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTTPREEQINSTRFSVSELPIHQ  
DWLNGKEFKCRVNSAAFAGAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPTPPKQMAKD KVS L TCMITNFFPEDITVEWQWNGQ  
50 PAENYKNTQPIMKTDGSYFVYSKLN VQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTTEKSLSHSPGK

Cadena ligera (SEQ ID NO: 126):

55 EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVTSSYLAWYQQKPGQAPRLINVG SRRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISR  
LEPEDFAVYYCQQGIMLPPTFGQGTK VEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSER  
QNGVLNSWTDQDSKDSYMSSTLTLTKEDEYERHNSYTCEATHKTTSTSPV KSFNRNEC

60 Se usaron anticuerpos anti-PD-L1 de reacción cruzada humanos/de ratón en los estudios. Por ejemplo, se generó un anticuerpo sustituto anti-PD-L1 de ratón basado en el anticuerpo frente a PD-L1 YW243.55.S70 descrito en el documento WO 2010/077634 (secuencia mostrada en la figura 11), denominado mulgG1 frente a PD-L1

YW243.55.S70, para su uso en modelos de tumor *in vivo*. Este anticuerpo contenía una mutación DAPG para anular la interacción con FcγR. La región variable de YW243.55.S70 se unió a un dominio constante de IgG1 murina con mutaciones en Fc DAPG.

5 Las secuencias de polipéptidos de mulgG1 frente a PD-L1 YW243.55.S70 son las siguientes:

HC con DAPG de mulgG1 frente a PD-L1 YW243.55.S70 (SEQ ID NO: 111):

10  
 11  
 12  
 13  
 14  
 15  
 16  
 17  
 18  
 19  
 20  
 21  
 22  
 23  
 24  
 25  
 26  
 27  
 28  
 29  
 30  
 31  
 32  
 33  
 34  
 35  
 36  
 37  
 38  
 39  
 40  
 41  
 42  
 43  
 44  
 45  
 46  
 47  
 48  
 49  
 50  
 51  
 52  
 53  
 54  
 55  
 56  
 57  
 58  
 59  
 60  
 61  
 62  
 63  
 64  
 65  
 66  
 67  
 68  
 69  
 70  
 71  
 72  
 73  
 74  
 75  
 76  
 77  
 78  
 79  
 80  
 81  
 82  
 83  
 84  
 85  
 86  
 87  
 88  
 89  
 90  
 91  
 92  
 93  
 94  
 95  
 96  
 97  
 98  
 99  
 100  
 101  
 102  
 103  
 104  
 105  
 106  
 107  
 108  
 109  
 110  
 111  
 112  
 113  
 114  
 115  
 116  
 117  
 118  
 119  
 120  
 121  
 122  
 123  
 124  
 125  
 126  
 127  
 128  
 129  
 130  
 131  
 132  
 133  
 134  
 135  
 136  
 137  
 138  
 139  
 140  
 141  
 142  
 143  
 144  
 145  
 146  
 147  
 148  
 149  
 150  
 151  
 152  
 153  
 154  
 155  
 156  
 157  
 158  
 159  
 160  
 161  
 162  
 163  
 164  
 165  
 166  
 167  
 168  
 169  
 170  
 171  
 172  
 173  
 174  
 175  
 176  
 177  
 178  
 179  
 180  
 181  
 182  
 183  
 184  
 185  
 186  
 187  
 188  
 189  
 190  
 191  
 192  
 193  
 194  
 195  
 196  
 197  
 198  
 199  
 200  
 201  
 202  
 203  
 204  
 205  
 206  
 207  
 208  
 209  
 210  
 211  
 212  
 213  
 214  
 215  
 216  
 217  
 218  
 219  
 220  
 221  
 222  
 223  
 224  
 225  
 226  
 227  
 228  
 229  
 230  
 231  
 232  
 233  
 234  
 235  
 236  
 237  
 238  
 239  
 240  
 241  
 242  
 243  
 244  
 245  
 246  
 247  
 248  
 249  
 250  
 251  
 252  
 253  
 254  
 255  
 256  
 257  
 258  
 259  
 260  
 261  
 262  
 263  
 264  
 265  
 266  
 267  
 268  
 269  
 270  
 271  
 272  
 273  
 274  
 275  
 276  
 277  
 278  
 279  
 280  
 281  
 282  
 283  
 284  
 285  
 286  
 287  
 288  
 289  
 290  
 291  
 292  
 293  
 294  
 295  
 296  
 297  
 298  
 299  
 300  
 301  
 302  
 303  
 304  
 305  
 306  
 307  
 308  
 309  
 310  
 311  
 312  
 313  
 314  
 315  
 316  
 317  
 318  
 319  
 320  
 321  
 322  
 323  
 324  
 325  
 326  
 327  
 328  
 329  
 330  
 331  
 332  
 333  
 334  
 335  
 336  
 337  
 338  
 339  
 340  
 341  
 342  
 343  
 344  
 345  
 346  
 347  
 348  
 349  
 350  
 351  
 352  
 353  
 354  
 355  
 356  
 357  
 358  
 359  
 360  
 361  
 362  
 363  
 364  
 365  
 366  
 367  
 368  
 369  
 370  
 371  
 372  
 373  
 374  
 375  
 376  
 377  
 378  
 379  
 380  
 381  
 382  
 383  
 384  
 385  
 386  
 387  
 388  
 389  
 390  
 391  
 392  
 393  
 394  
 395  
 396  
 397  
 398  
 399  
 400  
 401  
 402  
 403  
 404  
 405  
 406  
 407  
 408  
 409  
 410  
 411  
 412  
 413  
 414  
 415  
 416  
 417  
 418  
 419  
 420  
 421  
 422  
 423  
 424  
 425  
 426  
 427  
 428  
 429  
 430  
 431  
 432  
 433  
 434  
 435  
 436  
 437  
 438  
 439  
 440  
 441  
 442  
 443  
 444  
 445  
 446  
 447  
 448  
 449  
 450  
 451  
 452  
 453  
 454  
 455  
 456  
 457  
 458  
 459  
 460  
 461  
 462  
 463  
 464  
 465  
 466  
 467  
 468  
 469  
 470  
 471  
 472  
 473  
 474  
 475  
 476  
 477  
 478  
 479  
 480  
 481  
 482  
 483  
 484  
 485  
 486  
 487  
 488  
 489  
 490  
 491  
 492  
 493  
 494  
 495  
 496  
 497  
 498  
 499  
 500  
 501  
 502  
 503  
 504  
 505  
 506  
 507  
 508  
 509  
 510  
 511  
 512  
 513  
 514  
 515  
 516  
 517  
 518  
 519  
 520  
 521  
 522  
 523  
 524  
 525  
 526  
 527  
 528  
 529  
 530  
 531  
 532  
 533  
 534  
 535  
 536  
 537  
 538  
 539  
 540  
 541  
 542  
 543  
 544  
 545  
 546  
 547  
 548  
 549  
 550  
 551  
 552  
 553  
 554  
 555  
 556  
 557  
 558  
 559  
 560  
 561  
 562  
 563  
 564  
 565  
 566  
 567  
 568  
 569  
 570  
 571  
 572  
 573  
 574  
 575  
 576  
 577  
 578  
 579  
 580  
 581  
 582  
 583  
 584  
 585  
 586  
 587  
 588  
 589  
 590  
 591  
 592  
 593  
 594  
 595  
 596  
 597  
 598  
 599  
 600  
 601  
 602  
 603  
 604  
 605  
 606  
 607  
 608  
 609  
 610  
 611  
 612  
 613  
 614  
 615  
 616  
 617  
 618  
 619  
 620  
 621  
 622  
 623  
 624  
 625  
 626  
 627  
 628  
 629  
 630  
 631  
 632  
 633  
 634  
 635  
 636  
 637  
 638  
 639  
 640  
 641  
 642  
 643  
 644  
 645  
 646  
 647  
 648  
 649  
 650  
 651  
 652  
 653  
 654  
 655  
 656  
 657  
 658  
 659  
 660  
 661  
 662  
 663  
 664  
 665  
 666  
 667  
 668  
 669  
 670  
 671  
 672  
 673  
 674  
 675  
 676  
 677  
 678  
 679  
 680  
 681  
 682  
 683  
 684  
 685  
 686  
 687  
 688  
 689  
 690  
 691  
 692  
 693  
 694  
 695  
 696  
 697  
 698  
 699  
 700  
 701  
 702  
 703  
 704  
 705  
 706  
 707  
 708  
 709  
 710  
 711  
 712  
 713  
 714  
 715  
 716  
 717  
 718  
 719  
 720  
 721  
 722  
 723  
 724  
 725  
 726  
 727  
 728  
 729  
 730  
 731  
 732  
 733  
 734  
 735  
 736  
 737  
 738  
 739  
 740  
 741  
 742  
 743  
 744  
 745  
 746  
 747  
 748  
 749  
 750  
 751  
 752  
 753  
 754  
 755  
 756  
 757  
 758  
 759  
 760  
 761  
 762  
 763  
 764  
 765  
 766  
 767  
 768  
 769  
 770  
 771  
 772  
 773  
 774  
 775  
 776  
 777  
 778  
 779  
 780  
 781  
 782  
 783  
 784  
 785  
 786  
 787  
 788  
 789  
 790  
 791  
 792  
 793  
 794  
 795  
 796  
 797  
 798  
 799  
 800  
 801  
 802  
 803  
 804  
 805  
 806  
 807  
 808  
 809  
 810  
 811  
 812  
 813  
 814  
 815  
 816  
 817  
 818  
 819  
 820  
 821  
 822  
 823  
 824  
 825  
 826  
 827  
 828  
 829  
 830  
 831  
 832  
 833  
 834  
 835  
 836  
 837  
 838  
 839  
 840  
 841  
 842  
 843  
 844  
 845  
 846  
 847  
 848  
 849  
 850  
 851  
 852  
 853  
 854  
 855  
 856  
 857  
 858  
 859  
 860  
 861  
 862  
 863  
 864  
 865  
 866  
 867  
 868  
 869  
 870  
 871  
 872  
 873  
 874  
 875  
 876  
 877  
 878  
 879  
 880  
 881  
 882  
 883  
 884  
 885  
 886  
 887  
 888  
 889  
 890  
 891  
 892  
 893  
 894  
 895  
 896  
 897  
 898  
 899  
 900  
 901  
 902  
 903  
 904  
 905  
 906  
 907  
 908  
 909  
 910  
 911  
 912  
 913  
 914  
 915  
 916  
 917  
 918  
 919  
 920  
 921  
 922  
 923  
 924  
 925  
 926  
 927  
 928  
 929  
 930  
 931  
 932  
 933  
 934  
 935  
 936  
 937  
 938  
 939  
 940  
 941  
 942  
 943  
 944  
 945  
 946  
 947  
 948  
 949  
 950  
 951  
 952  
 953  
 954  
 955  
 956  
 957  
 958  
 959  
 960  
 961  
 962  
 963  
 964  
 965  
 966  
 967  
 968  
 969  
 970  
 971  
 972  
 973  
 974  
 975  
 976  
 977  
 978  
 979  
 980  
 981  
 982  
 983  
 984  
 985  
 986  
 987  
 988  
 989  
 990  
 991  
 992  
 993  
 994  
 995  
 996  
 997  
 998  
 999  
 1000

LC con DAPG de mulgG1 frente a PD-L1 YW243.55.S70 (SEQ ID NO: 112):

20  
 21  
 22  
 23  
 24  
 25  
 26  
 27  
 28  
 29  
 30  
 31  
 32  
 33  
 34  
 35  
 36  
 37  
 38  
 39  
 40  
 41  
 42  
 43  
 44  
 45  
 46  
 47  
 48  
 49  
 50  
 51  
 52  
 53  
 54  
 55  
 56  
 57  
 58  
 59  
 60  
 61  
 62  
 63  
 64  
 65  
 66  
 67  
 68  
 69  
 70  
 71  
 72  
 73  
 74  
 75  
 76  
 77  
 78  
 79  
 80  
 81  
 82  
 83  
 84  
 85  
 86  
 87  
 88  
 89  
 90  
 91  
 92  
 93  
 94  
 95  
 96  
 97  
 98  
 99  
 100  
 101  
 102  
 103  
 104  
 105  
 106  
 107  
 108  
 109  
 110  
 111  
 112  
 113  
 114  
 115  
 116  
 117  
 118  
 119  
 120  
 121  
 122  
 123  
 124  
 125  
 126  
 127  
 128  
 129  
 130  
 131  
 132  
 133  
 134  
 135  
 136  
 137  
 138  
 139  
 140  
 141  
 142  
 143  
 144  
 145  
 146  
 147  
 148  
 149  
 150  
 151  
 152  
 153  
 154  
 155  
 156  
 157  
 158  
 159  
 160  
 161  
 162  
 163  
 164  
 165  
 166  
 167  
 168  
 169  
 170  
 171  
 172  
 173  
 174  
 175  
 176  
 177  
 178  
 179  
 180  
 181  
 182  
 183  
 184  
 185  
 186  
 187  
 188  
 189  
 190  
 191  
 192  
 193  
 194  
 195  
 196  
 197  
 198  
 199  
 200  
 201  
 202  
 203  
 204  
 205  
 206  
 207  
 208  
 209  
 210  
 211  
 212  
 213  
 214  
 215  
 216  
 217  
 218  
 219  
 220  
 221  
 222  
 223  
 224  
 225  
 226  
 227  
 228  
 229  
 230  
 231  
 232  
 233  
 234  
 235  
 236  
 237  
 238  
 239  
 240  
 241  
 242  
 243  
 244  
 245  
 246  
 247  
 248  
 249  
 250  
 251  
 252  
 253  
 254  
 255  
 256  
 257  
 258  
 259  
 260  
 261  
 262  
 263  
 264  
 265  
 266  
 267  
 268  
 269  
 270  
 271  
 272  
 273  
 274  
 275  
 276  
 277  
 278  
 279  
 280  
 281  
 282  
 283  
 284  
 285  
 286  
 287  
 288  
 289  
 290  
 291  
 292  
 293  
 294  
 295  
 296  
 297  
 298  
 299  
 300  
 301  
 302  
 303  
 304  
 305  
 306  
 307  
 308  
 309  
 310  
 311  
 312  
 313  
 314  
 315  
 316  
 317  
 318  
 319  
 320  
 321  
 322  
 323  
 324  
 325  
 326  
 327  
 328  
 329  
 330  
 331  
 332  
 333  
 334  
 335  
 336  
 337  
 338  
 339  
 340  
 341  
 342  
 343  
 344  
 345  
 346  
 347  
 348  
 349  
 350  
 351  
 352  
 353  
 354  
 355  
 356  
 357  
 358  
 359  
 360  
 361  
 362  
 363  
 364  
 365  
 366  
 367  
 368  
 369  
 370  
 371  
 372  
 373  
 374  
 375  
 376  
 377  
 378  
 379  
 380  
 381  
 382  
 383  
 384  
 385  
 386  
 387  
 388  
 389  
 390  
 391  
 392  
 393  
 394  
 395  
 396  
 397  
 398  
 399  
 400  
 401  
 402  
 403  
 404  
 405  
 406  
 407  
 408  
 409  
 410  
 411  
 412  
 413  
 414  
 415  
 416  
 417  
 418  
 419  
 420  
 421  
 422  
 423  
 424  
 425  
 426  
 427  
 428  
 429  
 430  
 431  
 432  
 433  
 434  
 435  
 436  
 437  
 438  
 439  
 440  
 441  
 442  
 443  
 444  
 445  
 446  
 447  
 448  
 449  
 450  
 451  
 452  
 453  
 454  
 455  
 456  
 457  
 458  
 459  
 460  
 461  
 462  
 463  
 464  
 465  
 466  
 467  
 468  
 469  
 470  
 471  
 472  
 473  
 474  
 475  
 476  
 477  
 478  
 479  
 480  
 481  
 482  
 483  
 484  
 485  
 486  
 487  
 488  
 489  
 490  
 491  
 492  
 493  
 494  
 495  
 496  
 497  
 498  
 499  
 500  
 501  
 502  
 503  
 504  
 505  
 506  
 507  
 508  
 509  
 510  
 511  
 512  
 513  
 514  
 515  
 516  
 517  
 518  
 519  
 520  
 521  
 522  
 523  
 524  
 525  
 526  
 527  
 528  
 529  
 530  
 531  
 532  
 533  
 534  
 535  
 536  
 537  
 538  
 539  
 540  
 541

Grupos	Mediana de supervivencia en días	Valor de p frente a control	Supervivencia global
PBS	29	1	0/7
Mab frente a muPD-L1	42	0,2887	2/7
muCEA-IL2v	37	0,4725	1/7
muCEA-IL2v + Mab frente a muPD-L1	No alcanzada	0,0138*	4/7

TABLA 1B.

Compuesto	Dosis	Tampón de formulación	Concentración (mg/ml)
CEA-IL2v sf W(3a)	10 µg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	0,29 (= solución madre)
DAPG en aPD-L1 muIgG1 sf W(2a)	200 µg	Acetato de histidina 20 mM, sacarosa 240 mM, Tween 20 al 0,02 %, pH 5,5	2,29 (= solución madre)

5

**Ejemplo 2****Modelo singénico subcutáneo con MC38-CEA**

10 Se sometió a prueba el sustituto murino del inmunoconjugado de IL2v dirigida a CEA en la línea celular colorrectal transfectante de ratón MC38-CEA, inyectada por vía subcutánea en ratones Black 6 transgénicos para CEA-FcyRIII. Se usó un anticuerpo anti-PD-L1 de reacción cruzada humano/de ratón en este estudio.

15 Las células de carcinoma colorrectal MC38-CEA se obtuvieron originalmente de City of Hope (California, EE. UU.) y después de la expansión se depositaron en el banco de células interno de Roche-Glycart. La línea celular de tumor se cultivó de forma rutinaria en DMEM que contenía FCS al 10 % (Gibco) y G418 (Genitcin; Gibco) a 37 °C en una atmósfera saturada de agua a un 5 % de CO<sub>2</sub>. Se usó el pase 6 para el trasplante, a una viabilidad de un 97,9 %. Se inyectaron por vía subcutánea 5x10<sup>5</sup> células por animal en 100 µl de medio de cultivo celular RPMI (Gibco) en el costado de los ratones usando una jeringuilla con 1 ml de tuberculina (BD Biosciences, Alemania).

20 Se mantuvieron ratones hembra Black 6 con CEA-FcyRIII (Roche-Glycart; Suiza), de 8-9 semanas de edad al inicio del experimento (criados en Charles Rivers, Lyon, Francia) en condiciones libres de patógenos específicos con ciclos diarios de 12 h de luz/12 h de oscuridad de acuerdo con las directrices acordadas (GV-Solas; Felasa; TierschG). El protocolo del estudio experimental se revisó y aprobó por el gobierno local (P 2011/128). Después de su llegada, los animales se mantuvieron durante una semana para acostumbrarse al nuevo entorno y para su observación. Se llevó a cabo un seguimiento continuo sobre su salud de forma regular.

25 Se les inyectaron por vía subcutánea a los ratones el día del estudio 0 5x10<sup>5</sup> células MC38-CEA, se aleatorizaron y se pesaron. Dos semanas después de la inyección de células tumorales (volumen del tumor > 200 mm<sup>3</sup>), se les inyectó i.v. a los ratones CEA-IL-2v, Mab frente a PD-L1 o la combinación de CEA-IL-2v + Mab frente a PD-L1 una vez por semana durante dos semanas. Se les inyectaron i.v. a todos los ratones 200 µl de la solución apropiada. Se les inyectó a los ratones en el grupo de vehículo tampón histidina y el grupo de tratamiento la construcción CEA-IL-2v o el Mab frente a PD-L1 o la combinación CEA-IL-2v + Mab frente a PD-L1. Para obtener la cantidad apropiada de inmunoconjugado por 200 µl, las soluciones madre se diluyeron con tampón histidina cuando fue necesario.

35 La figura 2 y la tabla 2A muestran que la combinación 0,5 mg/kg de CEA-IL-2v + Mab frente a PD-L1 mediaba en una eficacia superior en términos de inhibición del crecimiento tumoral en comparación con CEA-IL-2v y Mab frente a PD-L1 solos y las combinaciones con menor dosis de CEA-IL2v.

40 TABLA 2A.

Grupos	Inhibición del crecimiento tumoral en el día 25 (%)	Valor de p (procedimiento de Dunnett)
Mab frente a PD-L1	15	1
0,1 mg/kg de muCEA-IL2v	18	1
0,25 mg/kg de muCEA-IL2v	47	0,499
0,5 mg/kg de muCEA-IL2v	46	0,274
0,1 mg/kg de muCEA-IL2v + Mab	36	0,901

Grupos	Inhibición del crecimiento tumoral en el día 25 (%)	Valor de p (procedimiento de Dunnett)
frente a PD-L1		
0,25 mg/kg de muCEA-IL2v + Mab frente a PD-L1	69	0,063
0,5 mg/kg de muCEA-IL2v + Mab frente a PD-L1	80	0,023*

TABLA 2B.

Compuesto	Dosis/ratón	Tampón de formulación	Concentración (mg/ml)
CEA-IL2v sfW(6a)	2, 5 y 10 µg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	1,57 (= solución madre)
mulgG1 frente a PD-L1 W(1)	200 µg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	27,1 (= solución madre)

### 5 Ejemplo 3

#### Modelo singénico pancreático con Panc02-CEA

10 Se sometió a prueba el sustituto murino del inmunoconjugado de CEA-IL2v dirigida a CEA en la línea celular transfectante Panc02-CEA pancreática de ratón inyectada por vía intrapancreática en ratones Black 6 transgénicos para CEA-FcyRIII. Se usó un anticuerpo anti-PD-L1 de reacción cruzada humano/de ratón en este estudio.

15 Las células Panc02-H7 (carcinoma pancreático de ratón) se obtuvieron originalmente del MD Anderson Cancer Center (Texas, EE. UU.) y después de la expansión se depositaron en el banco de células interno de Roche-Glycart. Se produjeron internamente células Panc02-H7-huCEA por técnicas de transfección y subclonación con calcio. Se cultivaron Panc02-H7-huCEA en medio RPMI que contenía FCS al 10 % (Sigma), 4 µg/ml de puomicina y Glutamax al 1 %. Las células se cultivaron a 37 °C en una atmósfera saturada de agua a un 5 % de CO<sub>2</sub>. Se usó el pase 21 para el trasplante. La viabilidad celular fue de un 93,1 %. Se inyectaron 1x10<sup>5</sup> células por animal en el páncreas de los ratones usando una jeringuilla con 0,3 ml de tuberculina (BD Biosciences, Alemania). Para ello, se realizó una  
20 pequeña incisión en el sitio abdominal izquierdo del ratón Black 6 transgénico para CEA-FcyRIII anestesiado. Se abrió la pared peritoneal y se aisló cuidadosamente el páncreas con fórceps. Se les inyectaron diez microlitros (1x10<sup>5</sup> células Panc02-H7-huCEA en medio RPMI) de suspensión celular en la cola del páncreas. La pared peritoneal y las heridas de la piel se cerraron usando hilos de sutura reabsorbibles 5/0.

25 Se mantuvieron ratones hembra Black 6 con CEA-FcyRIII (Roche-Glycart; Suiza), de 8-9 semanas de edad al inicio del experimento (criados en Charles Rivers, Lyon, Francia) en condiciones libres de patógenos específicos con ciclos diarios de 12 h de luz/12 h de oscuridad de acuerdo con las directrices acordadas (GV-Solas; Felasa; TierschG). El protocolo del estudio experimental se revisó y aprobó por el gobierno local (P 2011/128). Después de su llegada, los animales se mantuvieron durante una semana para acostumbrarse al nuevo entorno y para su  
30 observación. Se llevó a cabo un seguimiento continuo sobre su salud de forma regular.

35 Se les inyectaron por vía intrapancreática a los ratones el día del estudio 0 1x10<sup>5</sup> células Panc02-CEA, se aleatorizaron y se pesaron. Una semana después de la inyección de células tumorales, se les inyectó i.v. a los ratones CEA-IL-2v, Mab frente a PD-L1 o la combinación de CEA-IL-2v + Mab frente a PD-L1 una vez por semana durante cinco semanas.

40 Se les inyectaron i.v. a todos los ratones 200 µl de la solución apropiada. Se les inyectó a los ratones en el grupo de vehículo tampón histidina y el grupo de tratamiento la construcción CEA-IL-2v o el Mab frente a PD-L1 o la combinación CEA-IL-2v + Mab frente a PD-L1. Para obtener la cantidad apropiada de inmunoconjugado por 200 µl, las soluciones madre se diluyeron con tampón histidina cuando fue necesario.

45 La figura 3 y la tabla 3A muestran que la combinación CEA-IL-2v + Mab frente a PD-L1 mediaba en una eficacia superior en términos de mediana de la supervivencia y supervivencia global potenciadas en comparación con CEA-IL-2v y Mab frente a PD-L1 solos.

TABLA 3A.

Grupos	Mediana de la supervivencia en días	Valor de p frente a control	Supervivencia global
Vehículo	29	1	0/6
Mab frente a muPD-L1	36	0,057	0/6

Grupos	Mediana de la supervivencia en días	Valor de p frente a control	Supervivencia global
muCEA-IL2v	43	0,0308*	0/6
muCEA-IL2v + Mab frente a muPD-L1	56	0,0043**	1/6

TABLA 3B.

Compuesto	Dosis	Tampón de formulación	Concentración (mg/ml)
CEA-IL2v sfW(6a)	5 µg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	1,57 (= solución madre)
mulgG1 frente a PD-L1 W(1)	200 µg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	27,1 (= solución madre)

#### 5 **Ejemplo 4**

##### **Modelo singénico pancreático con Panc02-CEA**

10 Se sometió a prueba el sustituto murino del inmunoconjugado de CEA-IL2v dirigida a CEA frente al inmunoconjugado de DP47-IL2v no dirigida en la línea celular transfectante Panc02-CEA pancreática de ratón inyectada por vía intrapancreática en ratones Black 6 transgénicos para CEA-FcγRIII. Se usó un anticuerpo anti-PD-L1 de reacción cruzada humano/de ratón en este estudio.

15 Las células Panc02-H7 (carcinoma pancreático de ratón) se obtuvieron originalmente del MD Anderson Cancer Center (Texas, EE. UU.) y después de la expansión se depositaron en el banco de células interno de Roche-Glycart. Se produjeron internamente células Panc02-H7-huCEA por técnicas de transfección y subclonación con calcio. Se cultivaron Panc02-H7-huCEA en medio RPMI que contenía FCS al 10 % (Sigma), 4 µg/ml de puomicina y Glutamax al 1 %. Las células se cultivaron a 37 °C en una atmósfera saturada de agua a un 5 % de CO<sub>2</sub>. Se usó el pase 12 para el trasplante. La viabilidad celular fue de un 94 %. Se inyectaron 1x10<sup>5</sup> células por animal en el páncreas de los ratones usando una jeringuilla con 0,3 ml de tuberculina (BD Biosciences, Alemania). Para ello, se realizó una pequeña incisión en el sitio abdominal izquierdo del ratón Black 6 transgénico para CEA-FcγRIII anestesiado. Se abrió la pared peritoneal y se aisló cuidadosamente el páncreas con fórceps. Se les inyectaron diez microlitros (1x10<sup>5</sup> células Panc02-H7-huCEA en medio RPMI) de suspensión celular en la cola del páncreas. La pared peritoneal y las heridas de la piel se cerraron usando hilos de sutura reabsorbibles 5/0.

25 Se mantuvieron ratones hembra Black 6 con CEA-FcγRIII (Roche-Glycart; Suiza), de 8-9 semanas de edad al inicio del experimento (criados en Charles Rivers, Lyon, Francia) en condiciones libres de patógenos específicos con ciclos diarios de 12 h de luz/12 h de oscuridad de acuerdo con las directrices acordadas (GV-Solas; Felasa; TierschG). El protocolo del estudio experimental se revisó y aprobó por el gobierno local (P ZH193/2014). Después de su llegada, los animales se mantuvieron durante una semana para acostumbrarse al nuevo entorno y para su observación. Se llevó a cabo un seguimiento continuo sobre su salud de forma regular.

30 Se les inyectaron por vía intrapancreática a los ratones el día del estudio 0 1x10<sup>5</sup> células Panc02-CEA, se aleatorizaron y se pesaron. Una semana después de la inyección de células tumorales, se les inyectó i.v. a los ratones CEA-IL-2v, Mab frente a PD-L1 o la combinación de CEA-IL-2v + Mab frente a PD-L1 una vez por semana durante cuatro semanas.

35 Se les inyectaron i.v. a todos los ratones 200 µl de la solución apropiada. Se les inyectó a los ratones en el grupo de vehículo tampón histidina y el grupo de tratamiento la construcción CEA-IL2v o la DP47-IL2v o el Mab frente a PD-L1 o la combinación CEA-IL2v + Mab frente a PD-L1 y DP47-IL2v + Mab frente a PD-L1. Para obtener la cantidad apropiada de inmunoconjugado por 200 µl, las soluciones madre se diluyeron con tampón histidina cuando fue necesario. Las dosis usadas para CEA-IL2v y DP47-IL2v se eligieron para equipararse a niveles similares de exposiciones 24 h después de su administración, como se mide por el ensayo ELISA para el receptor de IL2 (mostrado en la figura 4B).

40 La figura 4A y la tabla 4A muestran que la combinación CEA-IL-2v + Mab frente a PD-L1 mediaba en una eficacia superior en términos de mediana de la supervivencia y supervivencia global potenciadas en comparación con CEA-IL-2v, DP47-IL2v, Mab frente a PD-L1 solos y la combinación DP47-IL2v + Mab frente a PD-L1.

50 TABLA 4A.

Grupos	Mediana de la supervivencia en días	Valor de p frente a control	Supervivencia global
Vehículo	31	1	0/6

Grupos	Mediana de la supervivencia en días	Valor de <i>p</i> frente a control	Supervivencia global
Mab frente a PD-L1	45	0,0187*	0/6
CEA-IL2v	39	0,0777	0/6
CEA-IL2v + Mab frente a PD-L1	58	0,0012**	2/6
DP47-IL2v	29	0,4073	0/6
DP47-IL2v + Mab frente a PD-L1	46	0,0125*	0/6

TABLA 4B. Prueba del orden logarítmico por pares (nivel de prueba múltiple = 0,00333).

Grupo	Vehículo	muCEA-IL2v	muCEA-IL2v + muPD-L1	muDP47-IL2v	muDP47-IL2v + muPD-L1	muPD-L1
Vehículo	1,0000	0,0777	0,0012*	0,4073	0,0125*	0,0187*
muCEA-IL2v	0,0777	1,0000	0,0092*	0,0264*	0,1757	0,2203
muCEA-IL2v + muPD-L1	0,0012*	0,0092*	1,0000	0,0006*	0,0450*	0,0209*
muDP47-IL2v	0,4073	0,0264*	0,0006*	1,0000	0,0006*	0,0006*
muDP47-IL2v + muPD-L1	0,0125*	0,1757	0,0450*	0,0006*	1,0000	0,4744
muPD-L1	0,0187*	0,2203	0,0209*	0,0006*	0,4744	1,0000

5 TABLA 4C.

Compuesto	Dosis	Tampón de formulación	Concentración (mg/ml)
CEA-IL2v sfW(6a)	5 µg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	1,57 (= solución madre)
CHO con DP47-IL2v sfW(6a)	4 µg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, Tween 20 al 0,01 %, pH 6,0	4,14 (= solución madre)
mulgG1 frente a PD-L1 W(1)	200 µg	Acetato de histidina 20 mM, sacarosa 240 mM, Tween 20 al 0,02 %, pH 5,5	27,1 (= solución madre)

**Ejemplo 5**

10 **Regulación por incremento de PD-L1 tras el tratamiento con CEA-IL2v**

Se aislaron las PBMC de sangre roja. En resumen, la sangre se diluyó 3:1 con PBS. Se combinaron aproximadamente 30 ml de la mezcla sangre/PBS en 15 ml de Histopaque (Sigma) y se centrifugó durante 30 min a 450 x g sin frenado. Se recogieron los linfocitos con una pipeta de 5 ml en tubos de 50 ml que contenían PBS. Se llenaron los tubos hasta 50 ml con PBS y se centrifugaron 10 min a 350 x g. Se desechó el sobrenadante, se resuspendió el sedimento en 50 ml de PBS y se centrifugó durante 10 min a 300 x g. Se repitió una vez la etapa de lavado. Se resuspendieron las células en RPMI que contenía FCS al 10 % y glutamina al 1 %.

15 A549 (86012804 en ECACC) es una línea celular de carcinoma de pulmón (adenocarcinoma; tumor primario) de sujeto de raza blanca humana. Se cultivaron las células en DMEM que contenía FCS al 10 % y glutamina al 1 %. Las células se dividieron de cada dos a cuatro días antes de alcanzar la confluencia.

20 Se obtuvieron células A549 el día antes del inicio del ensayo y se sembraron en placas de 6 pocillos con una densidad de 1 millón de células por pocillo en 1 ml de medio. Al día siguiente, se retiró el medio y se añadieron PBMC, lo que dio como resultado una proporción E:D final de 10:1 o 1:1 o medio solo. Las células se trataron con CEA-IL2v 100 nM, CEA-IL2v 10 nM o solo medio durante 48 h en la incubadora. Después del tratamiento, se obtuvieron A549 con tampón de disociación celular y se analizó la expresión de PD-L1 por citometría de flujo.

25 Se obtuvieron A549 después de 48 h con tampón de disociación celular y se usaron para análisis por FACS. Las células se centrifugaron durante 4 min a 400 g y se lavaron una vez con PBS que contenía BSA al 0,1 % (tampón de FACS). A continuación, se añadieron 40 µl por pocillo de anticuerpo anti-PD-L1 diluido (BioLegend, 5 µl en 40 µl de tampón de FACS) o el control de isotipo respectivo a las células. Se incubaron las células durante 30 min en el refrigerador.

30 Después de esto, las células se lavaron dos veces con tampón de FACS y se resuspendieron en 200 µl de tampón de FACS que contenía PFA al 2 % por pocillo. El análisis se realizó usando BD FACS Fortessa.

La figura 5 muestra que el tratamiento de células tumorales A549 con CEA-IL2v solo no dio lugar a una inducción de la expresión de PD-L1 en células A549. Sin embargo, cuando se trataron células A549 con CEA-IL2v en presencia de PBMC, se detectó una regulación por incremento dependiente de la concentración de PD-L1 en células A549. La regulación por incremento de PD-L1 también era dependiente de la cantidad de PBMC presentes en el cocultivo.

### Ejemplo 6

#### Modelo de tumor subcutáneo singénico con MC38-FAP

Se sometió a prueba el sustituto murino del inmunocombinado de FAP-IL2v dirigida a FAP en la línea celular transfectante MC38-FAP de adenocarcinoma de colon de ratón inyectada por vía subcutánea en ratones Black 6. Se usó el anticuerpo anti-PD-L1 de reacción cruzada humano/de ratón mulgG1 frente a PD-L1 YW243.55.S70 en este estudio.

Se produjeron células MC38-FAP *invivo* (pasadas *in vivo*) en Roche-Glycart y después de la expansión se depositaron en el banco de células interno de Glycart. Estas células se cultivaron de forma rutinaria en medio DMEM (GIBCO, Suiza) complementado con suero fetal bovino al 10 % (Invitrogen, Suiza), piruvato 1 mM y NEAA al 1 % más 6 µg/ml de puromicina a 37 °C en una atmósfera saturada de agua a un 5 % de CO<sub>2</sub>. Se realizó el pase de cultivo con tripsina/EDTA 1x (GIBCO, Suiza) con división cada dos días. El día de la inyección, se obtuvieron las células tumorales usando tripsina-EDTA (Gibco, Suiza) de matraces de cultivo (Greiner Bio-One) y se transfirieron a 50 ml de medio de cultivo, se lavaron y se resuspendieron en medio libre de suero RPMI (Gibco, Suiza). Después de un lavado adicional con RPMI, se determinó la concentración de células usando un contador de células. Para la inyección, se ajustó el valor final a 20x10<sup>6</sup> células/ml, con 2x10<sup>6</sup> células en 100 µl de medio de cultivo celular RPMI.

Se adquirieron ratones hembra Black 6 de Charles Rivers, se mantuvieron en condiciones libres de patógenos específicos con ciclos diarios de 12 h de luz/12 h de oscuridad de acuerdo con las directrices acordadas (GV-Solas; Felasa; TierschG). El protocolo del estudio experimental se revisó y aprobó por el gobierno local (P ZH193/2014). Después de su llegada, los animales se mantuvieron durante una semana para acostumbrarse al nuevo entorno y para su observación. Se llevó a cabo un seguimiento continuo sobre su salud de forma regular.

Se les inyectaron s.c. a los ratones el día del estudio 0 células MC38-muFAP (2x10<sup>6</sup> células/100 µl/ratón); pase 7 a una viabilidad de un 94,4 %. El vehículo y el tratamiento con anticuerpos (muFAP-IL2v; a una dosis de 2 mg/kg y muPD-L1 a una dosis de 10 mg/kg, así como su combinación) se inyectaron i.v. el día x (tumores de más de 100 mm<sup>3</sup>), día x + 7, + 14, + 21, etc. El número máximo de tratamientos para un ratón fue de cinco.

Se les inyectaron i.v. a todos los ratones 200 µl de la solución apropiada. Se les inyectó a los ratones en el grupo de vehículo tampón histidina y el grupo de tratamiento anticuerpo. Para obtener la cantidad apropiada de anticuerpo por 200 µl, las soluciones de anticuerpo se diluyeron con tampón histidina cuando fue necesario.

Las figuras 6A y 6B y la tabla 5 A muestran que la combinación FAP-IL-2v + Mab frente a PD-L1 mediaba en una eficacia superior en términos de inhibición del crecimiento tumoral, así como una mediana de la supervivencia y supervivencia global potenciadas en comparación con FAP-IL-2v y Mab frente a PD-L1 solos.

TABLA 5A.

Grupo	Mediana de la supervivencia en días	Valor de p frente a control
Vehículo	30	1,0000
muFAP-IL-2v	40	0,2190
anti-PDL1	48	0,0351*
muFAP-IL-2v + anti-PDL1	64	0,0066**

TABLA 5B.

Compuesto	Dosis	Tampón de formulación	Conc. (mg/ml)
DAPG DDKK en mulgG1 4B9 frente a FAP-muIL2v en BL6	40 µg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	5,94 (= solución madre)
anti-PD-L1 mulgG1	200 µg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	2,54 (= solución madre)

LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> F. HOFFMANN-LA ROCHE AG
- 5 <120> Politerapia de inmunocitocinas de variante de IL-2 dirigida a tumor y anticuerpos frente a PD-L1 humano
- <130> 32228
- <150> EP 14182778.2
- 10 <151> 29-08-2014
- <160> 126
- <170> PatentIn versión 3.5
- 15 <210> 1
- <211> 227
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- 20 <400> 1

```

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1          5          10          15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
          20          25          30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
          35          40          45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50          55          60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65          70          75          80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
          85          90          95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
          100          105          110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
          115          120          125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130          135          140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145          150          155          160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
          165          170          175
    
```

ES 2 774 380 T3

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val  
 180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 210 215 220

Pro Gly Lys  
 225

<210> 2  
 <211> 133  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> IL-2 humana (C125A)

<400> 2

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

5

10

15

ES 2 774 380 T3

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

5

<220>  
 <223> IL-2 humana mutante cuádruple (IL-2 qm)

<400> 3

10

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr  
 130

<210> 4  
 <211> 290  
 <212> PRT  
 <213> homo sapiens

15

<400> 4

Met Arg Ile Phe Ala Val Phe Ile Phe Met Thr Tyr Trp His Leu Leu  
 1 5 10 15

Asn Ala Phe Thr Val Thr Val Pro Lys Asp Leu Tyr Val Val Glu Tyr  
 20 25 30

20

Gly Ser Asn Met Thr Ile Glu Cys Lys Phe Pro Val Glu Lys Gln Leu  
 35 40 45

ES 2 774 380 T3

Asp Leu Ala Ala Leu Ile Val Tyr Trp Glu Met Glu Asp Lys Asn Ile  
 50 55 60

Ile Gln Phe Val His Gly Glu Glu Asp Leu Lys Val Gln His Ser Ser  
 65 70 75 80

Tyr Arg Gln Arg Ala Arg Leu Leu Lys Asp Gln Leu Ser Leu Gly Asn  
 85 90 95

Ala Ala Leu Gln Ile Thr Asp Val Lys Leu Gln Asp Ala Gly Val Tyr  
 100 105 110

Arg Cys Met Ile Ser Tyr Gly Gly Ala Asp Tyr Lys Arg Ile Thr Val  
 115 120 125

Lys Val Asn Ala Pro Tyr Asn Lys Ile Asn Gln Arg Ile Leu Val Val  
 130 135 140

Asp Pro Val Thr Ser Glu His Glu Leu Thr Cys Gln Ala Glu Gly Tyr  
 145 150 155 160

Pro Lys Ala Glu Val Ile Trp Thr Ser Ser Asp His Gln Val Leu Ser  
 165 170 175

Gly Lys Thr Thr Thr Thr Asn Ser Lys Arg Glu Glu Lys Leu Phe Asn  
 180 185 190

Val Thr Ser Thr Leu Arg Ile Asn Thr Thr Thr Asn Glu Ile Phe Tyr  
 195 200 205

Cys Thr Phe Arg Arg Leu Asp Pro Glu Glu Asn His Thr Ala Glu Leu  
 210 215 220

Val Ile Pro Glu Leu Pro Leu Ala His Pro Pro Asn Glu Arg Thr His  
 225 230 235 240

Leu Val Ile Leu Gly Ala Ile Leu Leu Cys Leu Gly Val Ala Leu Thr  
 245 250 255

Phe Ile Phe Arg Leu Arg Lys Gly Arg Met Met Asp Val Lys Lys Cys  
 260 265 270

Gly Ile Gln Asp Thr Asn Ser Lys Lys Gln Ser Asp Thr His Leu Glu  
 275 280 285

Glu Thr  
 290

ES 2 774 380 T3

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

<220>  
 <223> 3F2; VL

10 <400> 5

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

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

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

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

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

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

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

15 <210> 6  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

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

<400> 6

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

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

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

ES 2 774 380 T3

35

40

45

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80

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

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

5 <210> 7  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 3F2; VH

<400> 7

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
 115

15 <210> 8  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

ES 2 774 380 T3

<220>  
 <223> 3D9, VL

5 <400> 8

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

10 <210> 9  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> 3D9, VH

<400> 9

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



ES 2 774 380 T3

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser  
 20 25 30

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

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

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

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

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

- 5 <210> 12
- <211> 117
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> 4G8; VH
- <400> 12

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

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

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

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

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

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

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

15

ES 2 774 380 T3

Val Thr Val Ser Ser  
115

5 <210> 13  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> 4B3; VL  
<400> 13

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

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

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

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

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

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

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

15 <210> 14  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 4B3; VH  
<400> 14

25 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
20 25 30

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

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

ES 2 774 380 T3

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
115

5 <210> 15  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> 4D6; VL  
<400> 15

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

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

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

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

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

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

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

15 <210> 16  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 4D6; VH

25 <400> 16

ES 2 774 380 T3

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 17  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 2C6; VL

<400> 17

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

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

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

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

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

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

5

10

ES 2 774 380 T3

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

- 5 <210> 18
- <211> 117
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
- <223> 2C6; VH
- <400> 18

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
 115

- 15 <210> 19
- <211> 108
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 20 <220>
- <223> 5H5; VL
- <400> 19

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

- 25 <210> 19
- <211> 108
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 30 <220>
- <223> 5H5; VL
- <400> 19

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

ES 2 774 380 T3

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

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

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

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

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

- 5 <210> 20
- <211> 116
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- 10 <220>
- <223> 5H5; VH
- <400> 20

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

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

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

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

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

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

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

Thr Val Ser Ser  
 115

- 15 <210> 21
- <211> 108
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

20

ES 2 774 380 T3

<220>  
<223> 2C4; VL

<400> 21

5

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

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

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

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

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

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

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

<210> 22  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10

<220>  
<223> 2C4; VH

15

<400> 22

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

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

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

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

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

ES 2 774 380 T3

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
115

5 <210> 23  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> 2D9; VL  
<400> 23

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

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

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

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
65 70 75 80  
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Gln Ile Pro  
85 90 95

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

15 <210> 24  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 2D9; VH

25 <400> 24

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

ES 2 774 380 T3

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 25  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 4B8; VL

<400> 25

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

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

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

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

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

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

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

5

10

15

ES 2 774 380 T3

<210> 26  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> 4B8; VH

<400> 26

10

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 27  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> 7A1; VL

<400> 27

20

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

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

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

ES 2 774 380 T3

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

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

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

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

5 <210> 28  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 7A1; VH  
 <400> 28

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

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

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

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

15 Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 29  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 13C2; VL  
 <400> 29

ES 2 774 380 T3

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

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

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

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

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

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

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

- <210> 30
- 5 <211> 117
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> 13C2; VH
- <400> 30

ES 2 774 380 T3

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
 115

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

<220>  
 <223> 13E8; VL

<400> 31

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

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

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

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

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

ES 2 774 380 T3

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

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

5 <210> 32  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 13E8; VH  
 <400> 32

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
 115

15 <210> 33  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 14C10; VL  
 <400> 33

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

ES 2 774 380 T3

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

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

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

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

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

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

<210> 34  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 14C10; VH  
 <400> 34

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
 115

5

10

15

ES 2 774 380 T3

<210> 35  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> 17A11; VL

10

<400> 35

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

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

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

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

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

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

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

<210> 36  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> 17A11; VH

20

<400> 36

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

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

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

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

ES 2 774 380 T3

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
115

- 5 <210> 37
- <211> 108
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
- <223> 19G1; VL
- <400> 37

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

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

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

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

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

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

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

- 15 <210> 38
- <211> 117
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 20 <220>
- <223> 19G1; VH
- <400> 38

ES 2 774 380 T3

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 39  
 <211> 108  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 20G8; VL

10 <400> 39

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

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

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

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

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

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

ES 2 774 380 T3

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

- <210> 40
- <211> 117
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> 20G8; VH
- 10 <400> 40

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
115

- 15 <210> 41
- <211> 108
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 20 <223> 4B9; VL
- <400> 41

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

- 25 <210> 42
- <211> 109
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> 4B9; VL
- <400> 42

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

ES 2 774 380 T3

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

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

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

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

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

<210> 42  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 4B9; VH

<400> 42

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
 115

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

ES 2 774 380 T3

<220>  
<223> 5B8; VL

5 <400> 43

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

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

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

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

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

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

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

10 <210> 44  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> 5B8; VH

<400> 44

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

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

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

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

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

ES 2 774 380 T3

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
 115

5 <210> 45  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 5F1; VL  
 <400> 45

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

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

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

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

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

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

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

15 <210> 46  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 5F1; VH

25 <400> 46

ES 2 774 380 T3

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
 115

- <210> 47
- <211> 108
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- 10 <223> 14B3; VL
- <400> 47

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser



ES 2 774 380 T3

<210> 49  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 16F1; VL

10 <400> 49

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

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

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

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

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

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

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

15 <210> 50  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> 16F1; VH

<400> 50

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

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

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

Ser Gly Ile Ile Gly Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

ES 2 774 380 T3

50 55 60

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
115

5 <210> 51  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> 16F8; VL

<400> 51

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

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

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

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

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

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

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

15 <210> 52  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> 16F8; VH

ES 2 774 380 T3

<400> 52

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

5 <210> 53  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> O3C9; VL

<400> 53

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser  
 20 25 30  
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu  
 35 40 45  
 Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

15



ES 2 774 380 T3

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

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

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

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

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

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

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

<210> 56  
 <211> 117  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> O2D7; VH

<400> 56

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

5

10

ES 2 774 380 T3

100

105

110

Val Thr Val Ser Ser  
115

- 5 <210> 57
- <211> 108
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> 28H1; VL
- <400> 57

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

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

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

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

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

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

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

- 15 <210> 58
- <211> 116
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 20 <220>
- <223> 28H1; VH
- <400> 58

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

- 25 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His  
20 25 30

ES 2 774 380 T3

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

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser  
 115

5 <210> 59  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> 22A3; VL  
 <400> 59

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

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

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

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

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

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

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

15 <210> 60  
 <211> 117

ES 2 774 380 T3

<212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> 22A3; VH

<400> 60

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
 115

10 <210> 61  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> 29B11; VL

20 <400> 61

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

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

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

ES 2 774 380 T3

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

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

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

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

- <210> 62
- <211> 117
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> 29B11; VH
- <400> 62

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
 115

- 15 <210> 63
- <211> 108
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 20 <220>

ES 2 774 380 T3

<223> 23C10; VL

<400> 63

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

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

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

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

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

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

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

5

<210> 64

<211> 117

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> 23C10; VH

15 <400> 64

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

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

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

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

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

ES 2 774 380 T3

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

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

Val Thr Val Ser Ser  
 115

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

10 <220>  
 <223> CH1A1A 98/99 2F1; VL  
 <400> 65

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr  
 20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

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

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

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

15 <210> 66  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> CH1A1A 98/99 2F1; VH  
 <400> 66

25 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

ES 2 774 380 T3

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120

- <210> 67
- <211> 108
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <223> CH1A1A 98/99 2F1; VL

- <400> 67

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr  
20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

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

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

**Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys**  
 100 105

5 <210> 68  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> CH1A1A 98/99 2F1; VH  
 <400> 68

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly  
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

15 <210> 69  
 <211> 592  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> HC de Fab-botón en Fc (LALA P329G) de 28H1-IL-2 qm  
 <400> 69

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

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

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

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe  
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
275 280 285

ES 2 774 380 T3

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 290 295 300  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 305 310 315 320  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 325 330 335  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 340 345 350  
 Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val  
 355 360 365  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 370 375 380  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 385 390 395 400  
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 405 410 415  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 420 425 430  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly  
 435 440 445  
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser Ser  
 450 455 460  
 Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu  
 465 470 475 480  
 Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr  
 485 490 495  
 Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu  
 500 505 510  
 Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val  
 515 520 525  
 Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu

ES 2 774 380 T3

530

535

540

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr  
545 550 555 560

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe  
565 570 575

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr  
580 585 590

<210> 70  
<211> 593  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> HC de Fab-botón en Fc (LALA P329G) de 4G8-IL-2 qm

<400> 70

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160

ES 2 774 380 T3

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175  
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190  
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205  
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
 210 215 220  
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val  
 225 230 235 240  
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 245 250 255  
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270  
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285  
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300  
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 305 310 315 320  
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
 325 330 335  
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 340 345 350  
 Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu  
 355 360 365  
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 370 375 380  
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 385 390 395 400  
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

				405						410					415			
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu			
			420					425					430					
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly			
		435					440					445						
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Pro	Ala	Ser			
	450					455						460						
Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp			
465					470					475					480			
Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu			
			485					490						495				
Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	Ala	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu			
		500						505					510					
Leu	Lys	His	Leu	Gln	Cys	Leu	Glu	Glu	Glu	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu			
		515					520					525						
Val	Leu	Asn	Gly	Ala	Gln	Ser	Lys	Asn	Phe	His	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp			
	530					535						540						
Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu	Leu	Lys	Gly	Ser	Glu			
545					550					555					560			
Thr	Thr	Phe	Met	Cys	Glu	Tyr	Ala	Asp	Glu	Thr	Ala	Thr	Ile	Val	Glu			
				565					570					575				
Phe	Leu	Asn	Arg	Trp	Ile	Thr	Phe	Ala	Gln	Ser	Ile	Ile	Ser	Thr	Leu			
		580						585					590					

Thr

- <210> 71
- <211> 593
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> HC de Fab-botón en Fc (LALA P329G) de 4B9-IL-2 qm
- 10 <400> 71

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
 210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val  
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

ES 2 774 380 T3

260					265					270					
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
		275					280					285			
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
	290					295					300				
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
305					310					315					320
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
				325					330					335	
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
			340					345					350		
Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu
		355					360					365			
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
	370					375					380				
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
385				390						395					400
Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg
			405						410					415	
Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu
			420					425					430		
His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Gly	Gly
		435					440					445			
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Pro	Ala	Ser
	450					455					460				
Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu	Glu	His	Leu	Leu	Leu	Asp
465					470					475					480
Leu	Gln	Met	Ile	Leu	Asn	Gly	Ile	Asn	Asn	Tyr	Lys	Asn	Pro	Lys	Leu
			485						490					495	
Thr	Arg	Met	Leu	Thr	Ala	Lys	Phe	Ala	Met	Pro	Lys	Lys	Ala	Thr	Glu
			500					505						510	

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu  
515 520 525

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp  
530 535 540

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu  
545 550 555 560

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu  
565 570 575

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu  
580 585 590

Thr

- <210> 72
- <211> 593
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- 10 <223> HC de Fab-botón en Fc (LALA P329G) de 28H1-IL-2 qm (2)
- <400> 72

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

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

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

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

ES 2 774 380 T3

115		120		125											
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
	130					135					140				
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly
145					150					155					160
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
				165					170					175	
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu
			180					185						190	
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr
		195					200					205			
Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
	210					215					220				
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
225					230					235					240
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
				245					250					255	
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
			260					265					270		
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
		275					280					285			
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
	290					295					300				
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
305					310					315					320
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
				325					330					335	
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
			340					345					350		
Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val
		355					360					365			

ES 2 774 380 T3

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly  
 435 440 445

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser  
 450 455 460

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp  
 465 470 475 480

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu  
 485 490 495

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu  
 500 505 510

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu  
 515 520 525

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp  
 530 535 540

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu  
 545 550 555 560

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu  
 565 570 575

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu  
 580 585 590

Thr

<210> 73  
 <211> 594  
 <212> PRT

5

ES 2 774 380 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> HC de Fab-botón en Fc (LALA P329G) de 4B9-IL-2 qm (2)

5

<400> 73

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
210 215 220

ES 2 774 380 T3

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val  
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 340 345 350

Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu  
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly  
 435 440 445

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala  
 450 455 460

Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu  
 465 470 475 480

ES 2 774 380 T3

Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys  
 485 490 495

Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr  
 500 505 510

Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu  
 515 520 525

Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg  
 530 535 540

Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser  
 545 550 555 560

Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val  
 565 570 575

Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr  
 580 585 590

Leu Thr

- <210> 74
- <211> 446
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <223> HC de Fab-ojal en Fc (LALA P329G) de 28H1

<400> 74

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

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

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

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 50 55 60

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

ES 2 774 380 T3

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

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

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala  
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu  
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly  
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser  
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu  
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr  
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr  
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe  
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
325 330 335

ES 2 774 380 T3

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro  
 340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val  
 355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440 445

<210> 75  
 <211> 447  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> HC de Fab-ojal en Fc (LALA P329G) de 4G8

10 <400> 75

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

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

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

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

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

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

ES 2 774 380 T3

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val  
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro  
340 345 350

ES 2 774 380 T3

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala  
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440 445

<210> 76  
 <211> 447  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> HC de Fab-ojal en Fc (LALA P329G) de 4B9

10 <400> 76

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

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

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

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

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

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

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

ES 2 774 380 T3

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
 210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val  
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro  
 340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala  
 355 360 365

ES 2 774 380 T3

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
435 440 445

<210> 77  
<211> 215  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> LC de Fab de 4G8

<400> 77

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

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

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

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

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

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

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
115 120 125

ES 2 774 380 T3

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
 130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
 145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
 180 185 190  
 Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

- 5 <210> 78
- <211> 215
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 10 <220>
- <223> LC de Fab de 3F2
- <400> 78

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

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

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

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

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

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

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
 100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

15

ES 2 774 380 T3

115

120

125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215

- 5 <210> 79
- <211> 594
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- 10 <223> HC de Fab-botón en Fc (LALA P329G) de 4B9-IL-2 qm (2)
- <400> 79

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
 210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val  
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 340 345 350

Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu



ES 2 774 380 T3

<210> 80  
 <211> 447  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> HC de Fab-ojal en Fc (LALA P329G) de 4B9

10

<400> 80

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 115 120 125  
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 130 135 140  
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 145 150 155 160  
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175

ES 2 774 380 T3

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His  
 210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val  
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro  
 340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala  
 355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440 445

<210> 81  
 <211> 215  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> LC de Fab de 3F2

<400> 81

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

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

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

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

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

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

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
 100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
 115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
 130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
 145 150 155 160

ES 2 774 380 T3

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
 180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

<210> 82  
 <211> 599  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 10 <223> HC de Fab-botón en Fc (wt) de CH1A1A 98/99 2F1-IL-2 qm  
 <400> 82

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly  
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly  
 225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 385 390 395 400

ES 2 774 380 T3

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val  
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 435 440 445

Pro Gly Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 450 455 460

Gly Gly Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu  
 465 470 475 480

Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn  
 485 490 495

Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met  
 500 505 510

Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu  
 515 520 525

Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe  
 530 535 540

His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu  
 545 550 555 560

Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu  
 565 570 575

Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln  
 580 585 590

Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr  
 595

- <210> 83
- 5 <211> 599
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> HC de Fab-botón en Fc (wt) de CH1A1A 98/99 2F1-IL-2 qm
- <400> 83

ES 2 774 380 T3

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly  
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly  
 225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val  
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 435 440 445

Pro Gly Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 450 455 460

Gly Gly Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu  
 465 470 475 480

Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn  
 485 490 495

ES 2 774 380 T3

Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met  
500 505 510

Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu  
515 520 525

Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe  
530 535 540

His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu  
545 550 555 560

Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu  
565 570 575

Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln  
580 585 590

Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr  
595

- <210> 84
- 5 <211> 598
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> HC de Fab-botón en Fc (LALA P329G) de CH1A1A 98/99 2F1-IL-2 qm
- <400> 84

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly  
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly  
 225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile  
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val  
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 435 440 445

Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
 450 455 460

Ser Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu  
 465 470 475 480

His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr  
 485 490 495

Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro  
 500 505 510

Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu  
 515 520 525

Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His  
 530 535 540

Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu  
 545 550 555 560

Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr  
 565 570 575

ES 2 774 380 T3

Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser  
 580 585 590

Ile Ile Ser Thr Leu Thr  
 595

- <210> 85
- <211> 451
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> HC de Fab-ojal en Fc (wt) de CH1A1A
- <400> 85

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly  
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 165 170 175

15

ES 2 774 380 T3

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
 210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly  
 225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 340 345 350

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val  
 405 410 415

ES 2 774 380 T3

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 435 440 445

Pro Gly Lys  
 450

- <210> 86
- <211> 451
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- 10 <223> HC de Fab-ojal en Fc (wt) de CH1A1A 98/99 2F1
- <400> 86

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly  
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
 115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
 130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 145 150 155 160

15

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 165 170 175  
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 180 185 190  
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
 195 200 205  
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
 210 215 220  
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly  
 225 230 235 240  
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 245 250 255  
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 260 265 270  
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 275 280 285  
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 290 295 300  
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 305 310 315 320  
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile  
 325 330 335  
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 340 345 350  
 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser  
 355 360 365  
 Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 370 375 380  
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 385 390 395 400

ES 2 774 380 T3

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val  
 405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 435 440 445

Pro Gly Lys  
 450

5 <210> 87  
 <211> 215  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> LC de Fab de CH1A1A 98/99 2F1  
 <400> 87

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr  
 20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

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

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

Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
 100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
 115 120 125

15 Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
 130 135 140

ES 2 774 380 T3

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
 145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
 180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

<210> 88  
 <211> 215  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> LC de Fab de CH1A1A 98/99 2F1

<400> 88

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr  
 20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

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

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

Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
 100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
 115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
 130 135 140

5

10

15

ES 2 774 380 T3

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215

<210> 89  
<211> 118  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> se sintetiza la secuencia

<400> 89

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

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

Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

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

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

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

Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala  
115

<210> 90  
<211> 118  
<212> PRT

ES 2 774 380 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> se sintetiza la secuencia

5

<400> 90

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

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

Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

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

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

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

Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala  
115

10

<210> 91

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> se sintetiza la secuencia

<400> 91

20

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

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

Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45

Ala Trp Ile Leu Pro Tyr Gly Gly Ser Ser Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

ES 2 774 380 T3

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

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

Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ala  
115

5 <210> 92  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> se sintetiza la secuencia  
<400> 92

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

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

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

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

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

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

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

15 <210> 93  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> se sintetiza la secuencia  
25 <400> 93

ES 2 774 380 T3

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

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

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

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

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

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

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

<210> 94  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> se sintetiza la secuencia

<400> 94

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

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

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

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

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

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

ES 2 774 380 T3

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

- <210> 95
- <211> 108
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> se sintetiza la secuencia
- 10 <400> 95

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

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

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

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

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

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

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

- 15 <210> 96
- <211> 108
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- 20 <220>
- <223> se sintetiza la secuencia
- 25 <400> 96

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

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

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

ES 2 774 380 T3

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

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

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

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

5 <210> 97  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> se sintetiza la secuencia  
 <400> 97

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

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

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

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

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

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

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

15 <210> 98  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> se sintetiza la secuencia  
 25 <400> 98

ES 2 774 380 T3

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

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

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

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

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

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

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

<210> 99  
 <211> 108  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> se sintetiza la secuencia

10 <400> 99

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

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

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

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

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

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

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

ES 2 774 380 T3

<210> 100  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 5 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> se sintetiza la secuencia  
  
 10 <400> 100  
  
**Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly**  
**1 5 10 15**  
  
**Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala**  
**20 25 30**  
  
**Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile**  
**35 40 45**  
  
**Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly**  
**50 55 60**  
**Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro**  
**65 70 75 80**  
  
**Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Tyr Thr Pro Pro**  
**85 90 95**  
  
**Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg**  
**100 105**

15 <210> 101  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 20 <220>  
 <223> se sintetiza la secuencia  
  
 25 <400> 101

ES 2 774 380 T3

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

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

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

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

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

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

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

<210> 102  
<211> 108  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> se sintetiza la secuencia

<400> 102

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

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

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

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

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

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

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

15

ES 2 774 380 T3

- <210> 103
- <211> 108
- <212> PRT
- 5 <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> se sintetiza la secuencia
- 10 <400> 103

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

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

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

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

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

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

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

- 15 <210> 104
- <211> 108
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 20 <223> se sintetiza la secuencia
- <400> 104

ES 2 774 380 T3

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Trp Tyr His Pro Pro  
85 90 95

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

<210> 105  
<211> 108  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> se sintetiza la secuencia

<400> 105

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

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

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

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

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

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

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

15

ES 2 774 380 T3

<210> 106  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 5  
 <220>  
 <223> se sintetiza la secuencia  
 <400> 106  
 10  
**Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly**  
**1 5 10 15**  
  
**Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala**  
**20 25 30**  
  
**Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile**  
**35 40 45**  
  
**Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly**  
**50 55 60**  
  
**Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro**  
**65 70 75 80**  
  
**Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp Tyr Thr Pro Thr**  
**85 90 95**  
  
**Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg**  
**100 105**  
  
 <210> 107  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 15  
 <220>  
 <223> se sintetiza la secuencia  
 20  
 <400> 107  
  
**Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly**  
**1 5 10 15**  
  
**Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Ser Thr Ala**  
**20 25 30**  
  
**Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile**  
**35 40 45**

ES 2 774 380 T3

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Phe Ile Pro Pro  
85 90 95

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

<210> 108  
<211> 608  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> HC-Fc (DD) de muCEA-muLL2v

<400> 108

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe  
50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser  
115 120 125

Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val  
130 135 140

Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
145 150 155 160

Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
165 170 175

Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro  
180 185 190

Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro  
195 200 205

Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly  
210 215 220

Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile  
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys  
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Ala Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln  
260 265 270

Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Lys  
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Ile Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu  
290 295 300

Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg  
305 310 315 320

Val Asn Ser Ala Ala Phe Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
325 330 335

Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro  
340 345 350

Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr  
355 360 365

Asn Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln  
370 375 380

Pro Ala Glu Asn Tyr Asp Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly  
385 390 395 400

ES 2 774 380 T3

Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Asp Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu  
 405 410 415

Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn  
 420 425 430

His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly  
 435 440 445

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser Ser  
 450 455 460

Ser Thr Ser Ser Ser Thr Ala Glu Ala Gln Gln Gln Gln Gln Gln  
 465 470 475 480

Gln Gln Gln Gln Gln His Leu Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu  
 485 490 495

Leu Leu Ser Arg Met Glu Asn Tyr Arg Asn Leu Lys Leu Pro Arg Met  
 500 505 510

Leu Thr Ala Lys Phe Ala Leu Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp  
 515 520 525

Leu Gln Cys Leu Glu Asp Glu Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp  
 530 535 540

Gly Thr Gln Ser Lys Ser Phe Gln Leu Glu Asp Ala Glu Asn Phe Ile  
 545 550 555 560

Ser Asn Ile Arg Val Thr Val Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr  
 565 570 575

Phe Glu Cys Gln Phe Asp Asp Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu  
 580 585 590

Arg Arg Trp Ile Ala Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln  
 595 600 605

<210> 109  
 <211> 445  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> HC-Fc (KK) de muCEA

<400> 109

5

10

ES 2 774 380 T3

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe  
 50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly  
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser  
 115 120 125

Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val  
 130 135 140

Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 145 150 155 160

Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 165 170 175

Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro  
 180 185 190

Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro  
 195 200 205

Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly  
 210 215 220

Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile  
 225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys  
 245 250 255

ES 2 774 380 T3

Val Thr Cys Val Val Val Ala Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln  
260 265 270

Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Lys  
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Ile Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu  
290 295 300

Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg  
305 310 315 320

Val Asn Ser Ala Ala Phe Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
325 330 335

Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro  
340 345 350

Lys Lys Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr  
355 360 365

Asn Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln  
370 375 380

Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Lys Thr Asp Gly  
385 390 395 400

Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu  
405 410 415

Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn  
420 425 430

His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys  
435 440 445

<210> 110  
<211> 215  
5 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
10 <223> LC de muCEA

<400> 110

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

ES 2 774 380 T3

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr  
 20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

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

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

Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala  
 100 105 110

Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser  
 115 120 125

Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp  
 130 135 140

Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val  
 145 150 155 160

Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met  
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser  
 180 185 190

Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys  
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys  
 210 215

<210> 111  
 <211> 442  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> HC con DAPG de mulG1 frente a PD-L1 YW243.55.S70

10 <400> 111

ES 2 774 380 T3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Ser  
 20 25 30  
 Trp Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ala Trp Ile Ser Pro Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg His Trp Pro Gly Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro  
 115 120 125  
 Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly  
 130 135 140  
 Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn  
 145 150 155 160  
 Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 165 170 175  
 Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr  
 180 185 190  
 Trp Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser  
 195 200 205  
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro  
 210 215 220  
 Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro  
 225 230 235 240  
 Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys  
 245 250 255

ES 2 774 380 T3

Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Ala Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp  
260 265 270

Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu  
275 280 285

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met  
290 295 300

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser  
305 310 315 320

Ala Ala Phe Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly  
325 330 335

Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln  
340 345 350

Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe  
355 360 365

Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu  
370 375 380

Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe  
385 390 395 400

Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn  
405 410 415

Thr Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr  
420 425 430

Glu Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys  
435 440

- <210> 112
- <211> 214
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- <223> LC con DAPG de mulgG1 frente a PD-L1 YW243.55.S70

<400> 112

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala Ala  
 100 105 110

Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly  
 115 120 125

Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile  
 130 135 140

Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu  
 145 150 155 160

Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser  
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr  
 180 185 190

Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser  
 195 200 205

Phe Asn Arg Asn Glu Cys  
 210

<210> 113  
 <211> 107  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 113

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu  
 1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe  
 20 25 30

5

10

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
 35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
 50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
 65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
 85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 100 105

<210> 114  
 <211> 330  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 114

5

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys  
 1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
 35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr  
 65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
 85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys  
 100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 145 150 155 160

10

ES 2 774 380 T3

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu  
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
325 330

- <210> 115
- <211> 19
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial

- <220>
- 10 <223> secuencia líder
- <400> 115

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly  
1 5 10 15

Ala His Ser

- 15 <210> 116
- <211> 57
- <212> ADN

ES 2 774 380 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia líder

5 <400> 116  
**atggactgga cctggagaat cctcttcttg gtggcagcag ccacaggagc ccactcc** 57

<210> 117

10 <211> 57  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>

15 <223> secuencia líder

<400> 117  
**atggactgga cctggaggat cctcttcttg gtggcagcag ccacaggagc ccactcc** 57

<210> 118

20 <211> 22  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>

25 <223> secuencia líder

<400> 118

**Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp**  
 1 5 10 15

**Phe Pro Gly Ala Arg Cys**  
 20

30 <210> 119  
 <211> 66  
 <212> ADN

35 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia líder

40 <400> 119  
**atggacatga gggccccgc tcagctcttg ggcctcttgc tgcctctggt ccacaggtgcc** 60

**aggtgt** 66

<210> 120

<211> 19

45 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia líder

50 <400> 120

**Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly**  
 1 5 10 15

**Val His Ser**

55 <210> 121

ES 2 774 380 T3

<211> 57  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 5 <220>  
 <223> secuencia líder  
 <400> 121  
**atgggatgga gctgtatcat cctctttcttg gttagcaacag ctaccgggtg gcattcc** 57  
 10 <210> 122  
 <211> 57  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 15 <220>  
 <223> secuencia líder  
 <400> 122  
 20 **atgggctggt cctgcatcat cctgtttctg gtggtaccg ccactggagt gcattcc** 57  
 <210> 123  
 <211> 57  
 <212> ADN  
 25 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> secuencia líder  
 30 <400> 123  
**atgggctggt cctgcatcat cctgtttctg gtgcccacag ccaccggcgt gcactct** 57  
 <210> 124  
 <211> 604  
 35 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> HC-Fc (DD) de muFAP-muLL2v  
 40 <400> 124  
  
**Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly**  
**1 5 10 15**  
  
**Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr**  
**20 25 30**  
  
**Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val**  
**35 40 45**  
  
**Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val**  
**50 55 60**

ES 2 774 380 T3

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu  
 115 120 125  
 Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys  
 130 135 140  
 Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser  
 145 150 155 160  
 Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175  
 Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp  
 180 185 190  
 Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr  
 195 200 205  
 Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys  
 210 215 220  
 Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys  
 225 230 235 240  
 Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val  
 245 250 255  
 Val Val Ala Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe  
 260 265 270  
 Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 275 280 285  
 Gln Ile Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His  
 290 295 300  
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala  
 305 310 315 320

ES 2 774 380 T3

Ala Phe Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg  
 325 330 335

Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met  
 340 345 350

Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asn Phe Phe Pro  
 355 360 365

Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn  
 370 375 380

Tyr Asp Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val  
 385 390 395 400

Tyr Ser Asp Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr  
 405 410 415

Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu  
 420 425 430

Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly  
 435 440 445

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Ser Ser  
 450 455 460

Ser Thr Ala Glu Ala Gln  
 465 470 475 480

Gln His Leu Glu Gln Leu Leu Met Asp Leu Gln Glu Leu Leu Ser Arg  
 485 490 495

Met Glu Asn Tyr Arg Asn Leu Lys Leu Pro Arg Met Leu Thr Ala Lys  
 500 505 510

Phe Ala Leu Pro Lys Gln Ala Thr Glu Leu Lys Asp Leu Gln Cys Leu  
 515 520 525

Glu Asp Glu Leu Gly Pro Leu Arg His Val Leu Asp Gly Thr Gln Ser  
 530 535 540

Lys Ser Phe Gln Leu Glu Asp Ala Glu Asn Phe Ile Ser Asn Ile Arg  
 545 550 555 560

Val Thr Val Val Lys Leu Lys Gly Ser Asp Asn Thr Phe Glu Cys Gln  
 565 570 575

ES 2 774 380 T3

Phe Asp Asp Glu Ser Ala Thr Val Val Asp Phe Leu Arg Arg Trp Ile  
 580 585 590

Ala Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Ser Pro Gln  
 595 600

<210> 125  
 <211> 441  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> HC-Fc (KK) de muFAP

<400> 125

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu  
 115 120 125

Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys  
 130 135 140

Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser  
 145 150 155 160

Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 165 170 175

Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp  
 180 185 190

ES 2 774 380 T3

Pro Ser Gln Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr  
 195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys  
 210 215 220

Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys  
 225 230 235 240

Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val  
 245 250 255

Val Val Ala Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe  
 260 265 270

Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 275 280 285

Gln Ile Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His  
 290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala  
 305 310 315 320

Ala Phe Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg  
 325 330 335

Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Lys Gln Met  
 340 345 350

Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asn Phe Phe Pro  
 355 360 365

Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn  
 370 375 380

Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Lys Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val  
 385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr  
 405 410 415

Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu  
 420 425 430

Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys  
 435 440

<210> 126

ES 2 774 380 T3

<211> 215  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> LC de muFAP  
 <400> 126

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

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

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

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

10 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro  
 85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Ala Asp Ala  
 100 105 110

Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser  
 115 120 125

Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp  
 130 135 140

Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val  
 145 150 155 160

Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met  
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser  
 180 185 190

Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys  
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys  
 210 215

**REIVINDICACIONES**

1. Una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso como una politerapia en el tratamiento del cáncer, para su uso como una politerapia en la prevención o tratamiento de metástasis, para su uso como una politerapia en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, o para su uso como una politerapia en el tratamiento o retraso de la progresión de una enfermedad relacionada con el sistema inmunitario, tal como inmunidad tumoral,
- 5
- en la que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en la politerapia se caracteriza por comprender
- 10
- a) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, y SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88, o
- b) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 108, y SEQ ID NO: 109 y SEQ ID NO: 110, o
- 15
- c) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, y SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81, o
- d) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 124, y SEQ ID NO: 125 y SEQ ID NO: 126,
- 20
- y el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender
- a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92, o
- 25
- b) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:93, o
- c) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:94, o
- 30
- d) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:95, o
- e) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:96, o
- 35
- f) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:97, o
- g) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:98, o
- 40
- h) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:99, o
- 45
- i) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 100, o
- j) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 101, o
- 50
- k) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 102, o
- l) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 103, o
- 55
- m) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 104, o
- 60
- n) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 105, o
- o) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 106, o
- 65

- p) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:91 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 107.
- 5 2. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el tratamiento del cáncer.
- 10 3. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en el tratamiento de cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer ovárico, cáncer de melanoma, cáncer de vejiga, cáncer renal, cáncer de riñón, cáncer de hígado, cáncer de cabeza y cuello, cáncer colorrectal, melanoma, cáncer pancreático, cáncer de carcinoma gástrico, cáncer esofágico, mesotelioma, cáncer de próstata, leucemia, linfomas, mielomas.
- 15 4. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la prevención o tratamiento de metástasis.
- 20 5. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el tratamiento de enfermedades inflamatorias.
- 25 6. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el tratamiento o retraso de la progresión de una enfermedad relacionada con el sistema inmunitario, tal como inmunidad tumoral.
- 30 7. Una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso en
- 35 i) la inhibición del crecimiento tumoral en un tumor que expresa la diana de la inmunocitocina; y/o
- ii) la potenciación de la mediana de la supervivencia y/o supervivencia global de sujetos con un tumor que expresa la diana de la inmunocitocina;
- 40 en la que la diana se presenta en una célula tumoral o en un entorno de células tumorales, en la que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en la politerapia se caracteriza por comprender
- 45 a) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, y SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88, o
- b) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 108, y SEQ ID NO: 109 y SEQ ID NO: 110, o
- 50 c) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, y SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81, o
- 55 d) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 124, y SEQ ID NO: 125 y SEQ ID NO: 126;
- y el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender
- 60 a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92, o
- b) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:93, o
- 65 c) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:94, o
- d) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:95, o
- 70 e) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:96, o
- f) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:97, o
- 75 g) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:98, o
- 80 h) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:99, o

- i) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 100, o
- 5 j) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 101, o
- k) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 102, o
- 10 l) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 103, o
- m) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 104, o
- 15 n) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 105, o
- o) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 106, o
- p) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:91 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 107.
- 25 8. Una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en
- i) la inhibición del crecimiento tumoral en tumores que expresan CEA; y/o
- 30 ii) la potenciación de la mediana de la supervivencia y/o supervivencia global de sujetos con un tumor que expresa CEA,
- en la que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor es una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida al antígeno carcinoembrionario (CEA), en la que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA se administra en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano;
- 35 en la que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a CEA usada en la politerapia se caracteriza por comprender
- a) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, y SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88, o
- 40 b) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 108, y SEQ ID NO: 109 y SEQ ID NO: 110.
9. Una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en
- 45 i) la inhibición del crecimiento tumoral en un tumor que expresa FAP; y/o
- ii) la potenciación de la mediana de la supervivencia y/o supervivencia global de sujetos con un tumor que expresa FAP;
- 50 en la que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor es una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a la proteína de activación de fibroblastos (FAP), en la que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a FAP usada en la politerapia se caracteriza por comprender
- 55 a) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, y SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81, o
- b) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 124, y SEQ ID NO: 125 y SEQ ID NO: 126.
- 60 10. Una inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor, para su uso en el tratamiento de un paciente que tiene un tumor que expresa el antígeno carcinoembrionario (CEA) o un tumor caracterizado por la expresión o sobreexpresión de CEA, que tiene un tumor que expresa la proteína de activación de fibroblastos (FAP) o un tumor caracterizado por la expresión o sobreexpresión de FAP o que tiene un tumor asociado con la expresión o sobreexpresión de CEA o FAP, y en la que la inmunocitocina se administra en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano,
- 65

en la que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en la politerapia se caracteriza por comprender

- 5 a) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, y SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88, o
- b) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 108, y SEQ ID NO: 109 y SEQ ID NO: 110, o
- c) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, y SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81, o
- 10 d) las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO: 124, y SEQ ID NO: 125 y SEQ ID NO: 126;
- y el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender
- 15 a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92, o
- b) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:93, o
- 20 c) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:94, o
- d) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:95, o
- 25 e) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:96, o
- f) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:97, o
- 30 g) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:98, o
- h) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:99, o
- 35 i) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 100, o
- 40 j) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 101, o
- k) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 102, o
- 45 l) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 103, o
- 50 m) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 104, o
- n) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 105, o
- 55 o) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:90 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 106, o
- p) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:91 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO: 107.
- 60

11. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes,

65 en la que la inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor usada en la politerapia se caracteriza por comprender

las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:84, SEQ ID NO:86 y SEQ ID NO:88, o

las secuencias de polipéptidos de SEQ ID NO:79, SEQ ID NO:80 y SEQ ID NO:81,

5

y en la que el anticuerpo que se une a PD-L1 humano usado en la politerapia se caracteriza por comprender

a) un dominio variable de la cadena pesada VH de SEQ ID NO:89 y un dominio variable de la cadena ligera VL de SEQ ID NO:92.

10

12. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que el componente de anticuerpo de la inmunocitocina y el anticuerpo son de la subclase IgG1 humana o subclase IgG4 humana.

15

13. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que dichos anticuerpos tienen una función efectora reducida o mínima.

20

14. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la función efectora mínima resulta de una mutación en Fc sin efector.

25

15. La inmunocitocina de variante de IL-2 dirigida a tumor en combinación con un anticuerpo que se une a PD-L1 humano para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la mutación en Fc sin efector es L234A/L235A o L234A/L235A/P329G o N297A o D265A/N297A.

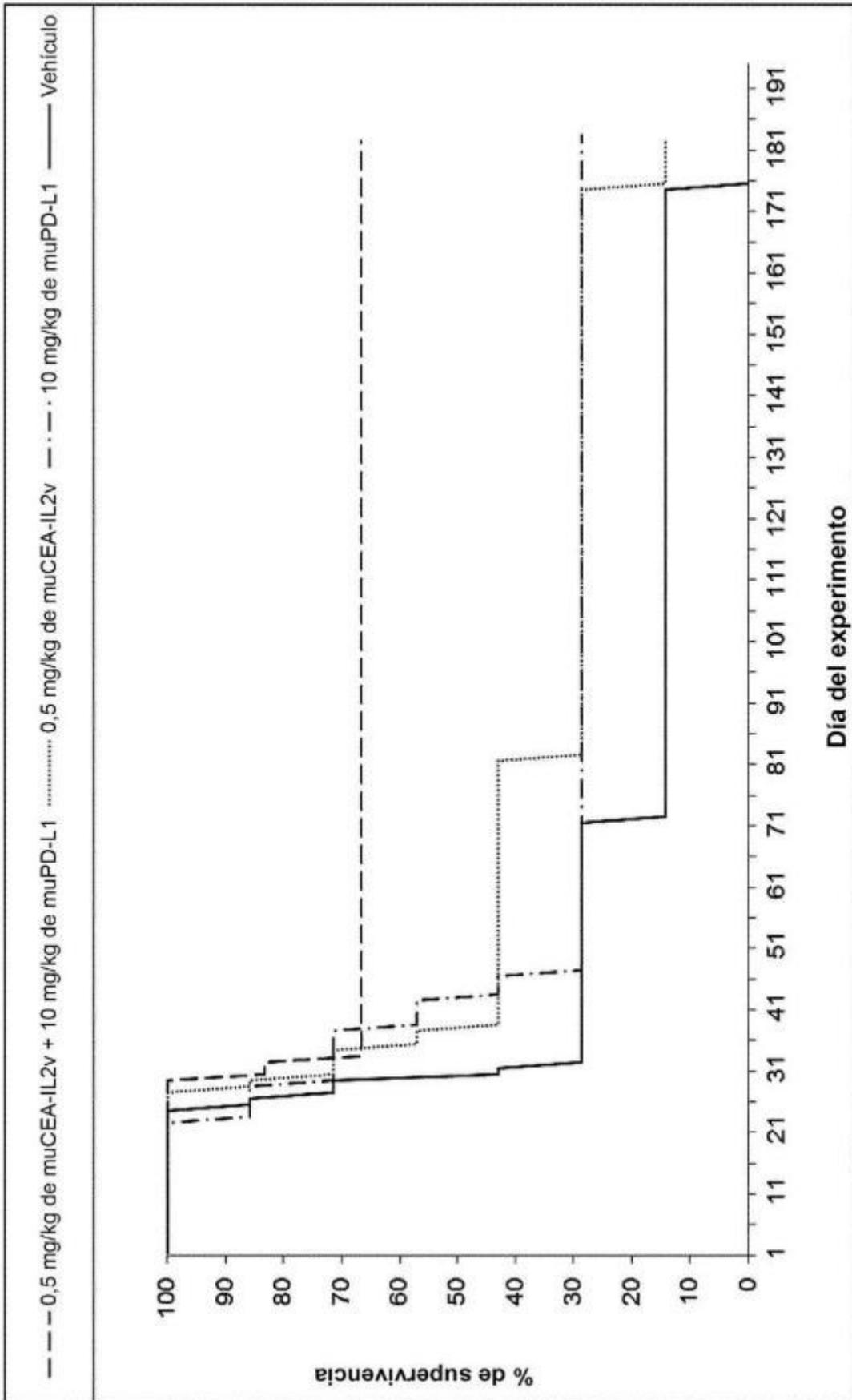


Fig.1

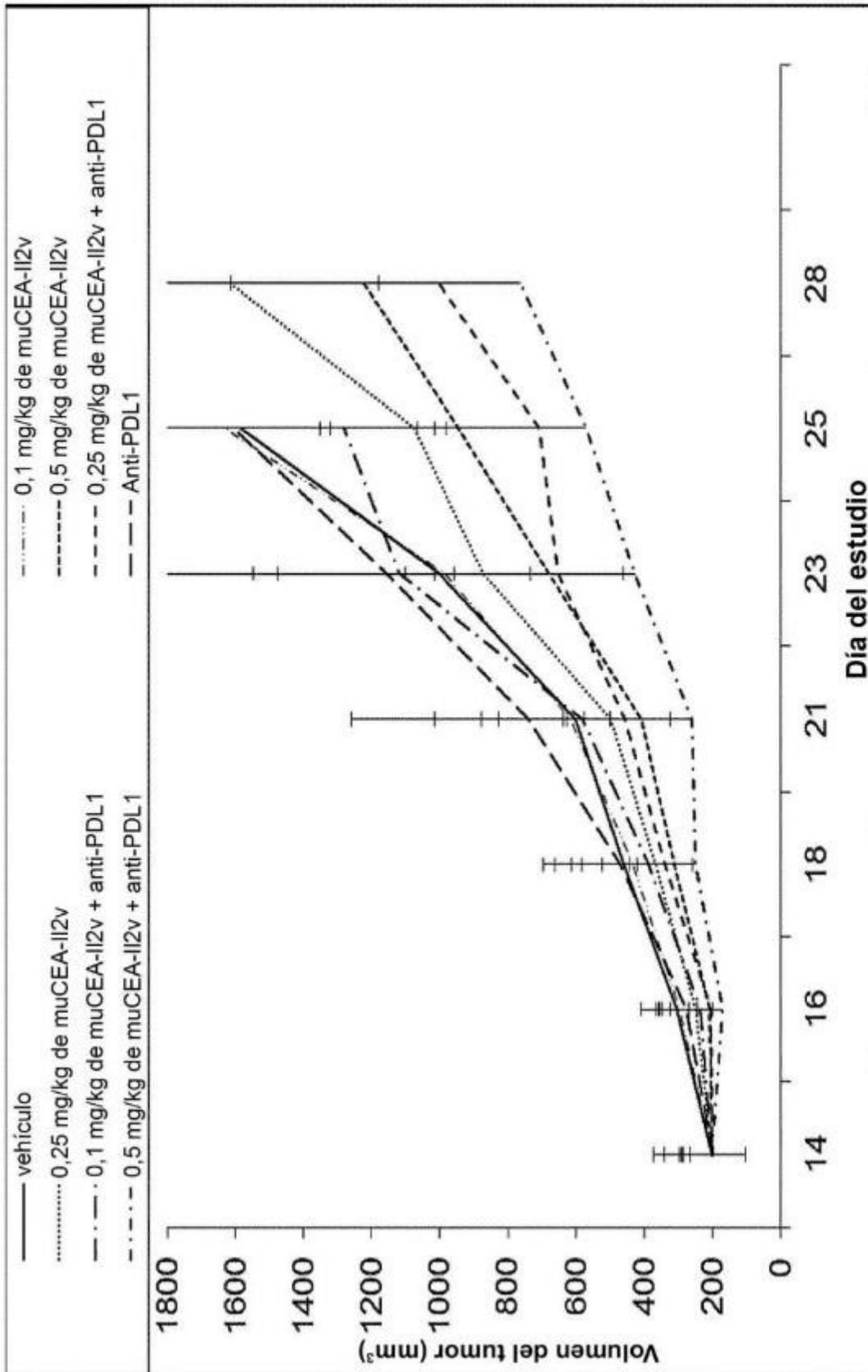


Fig.2

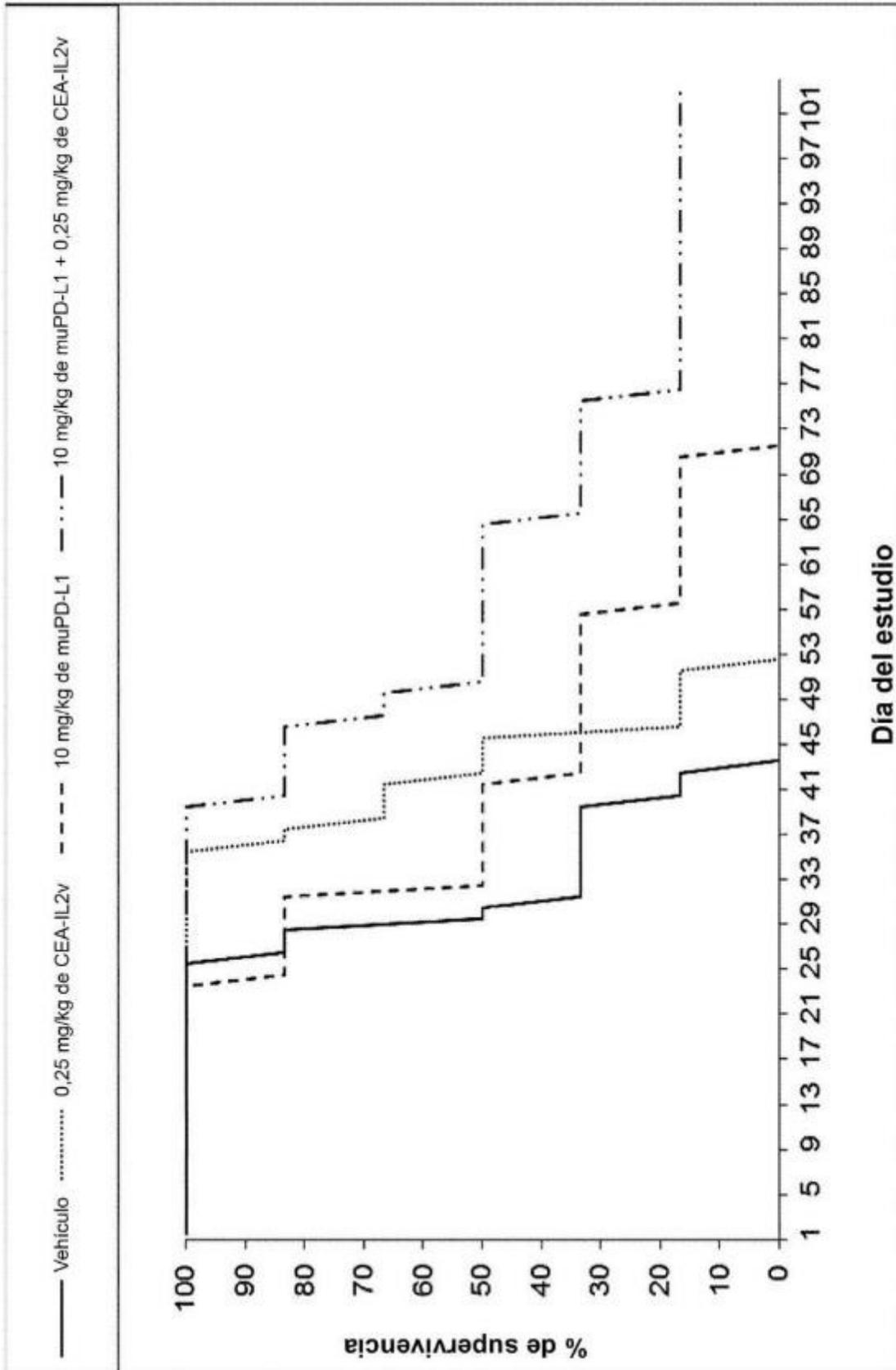


Fig.3

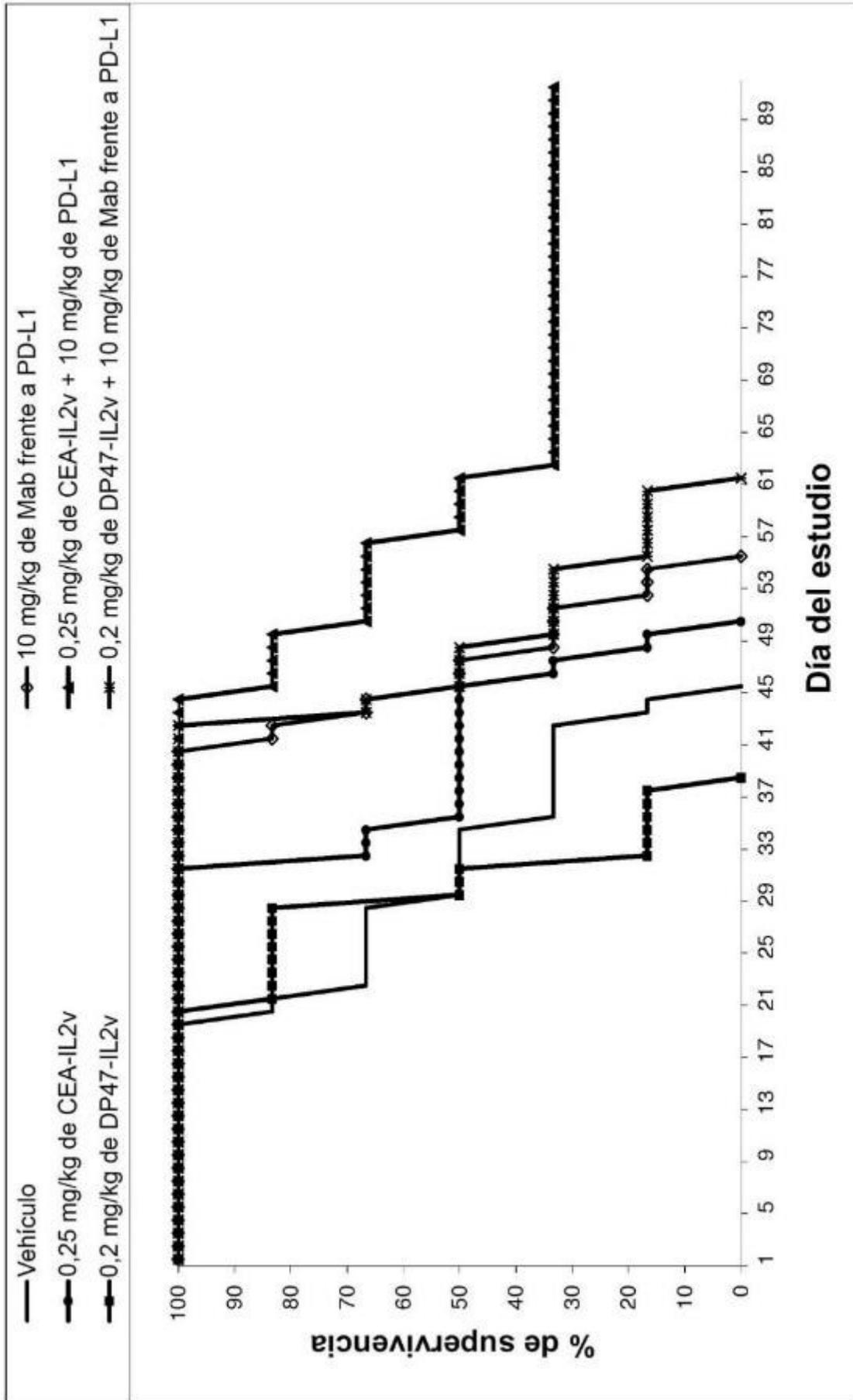


Fig.4A

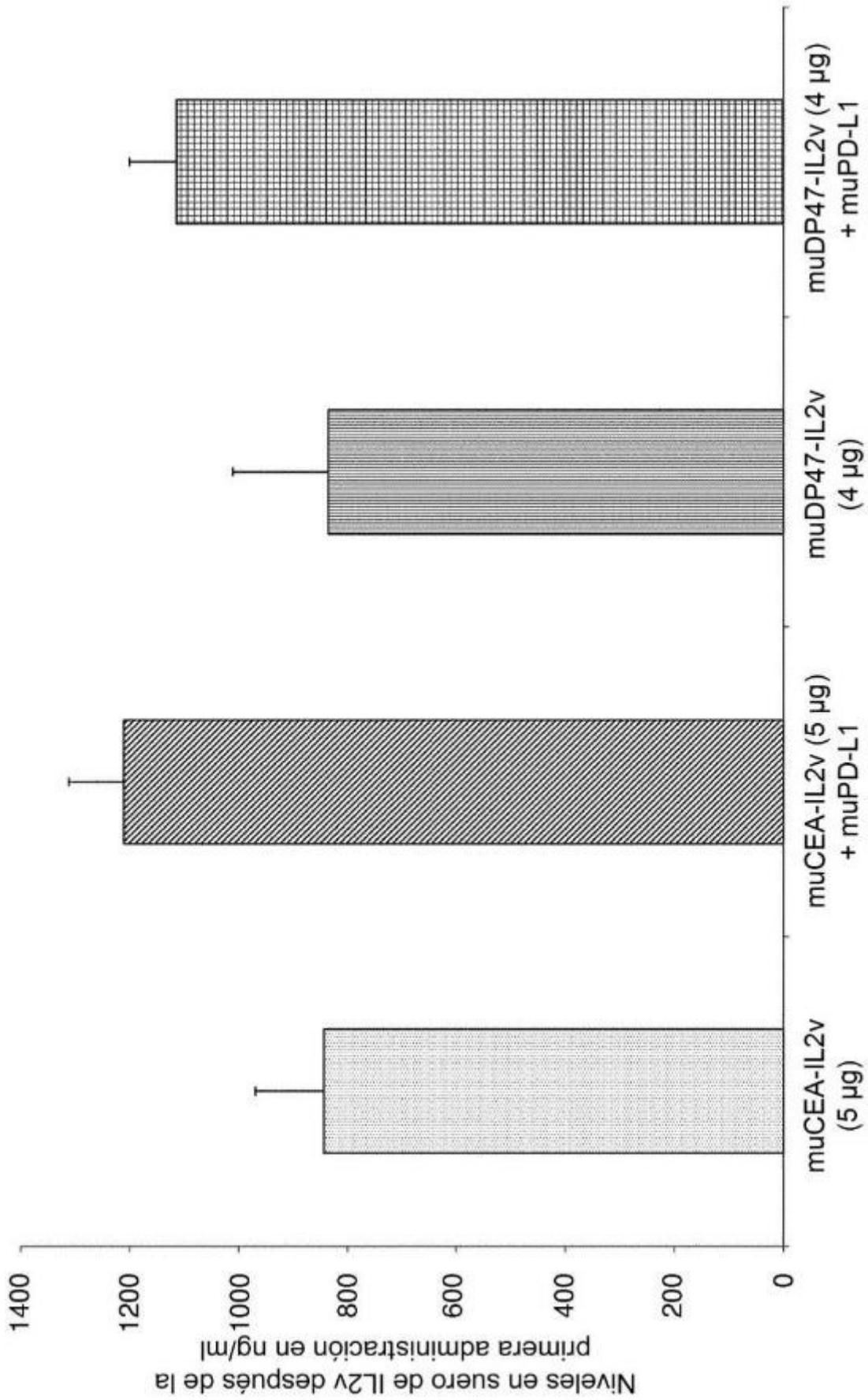
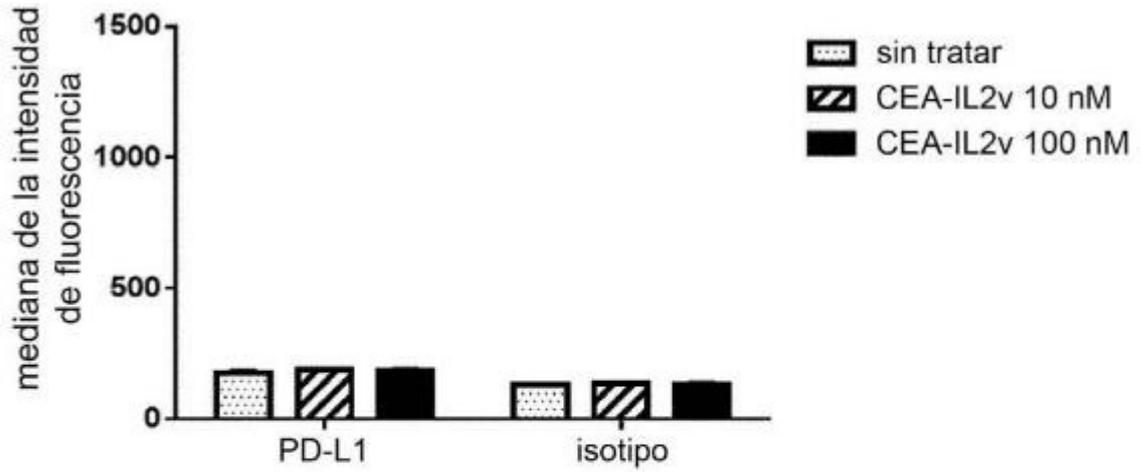
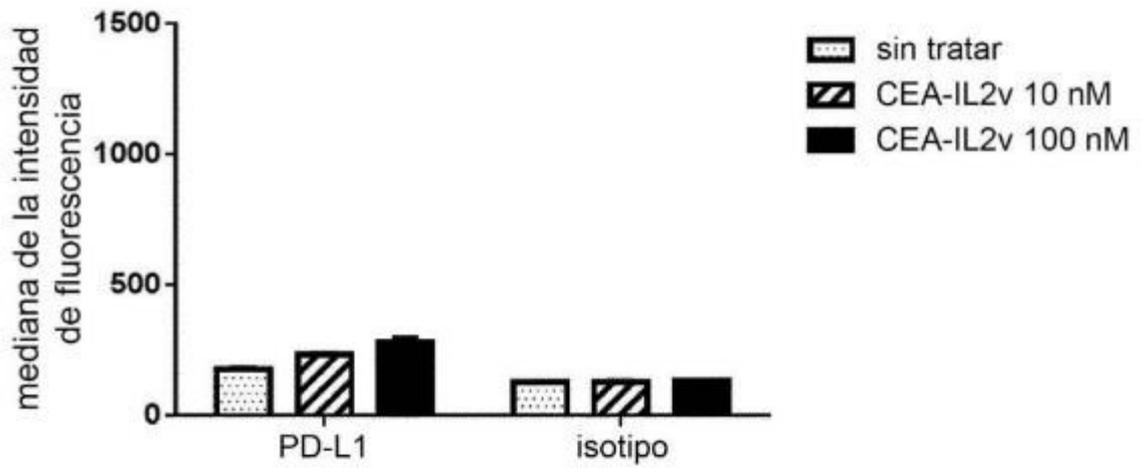


Fig.4B

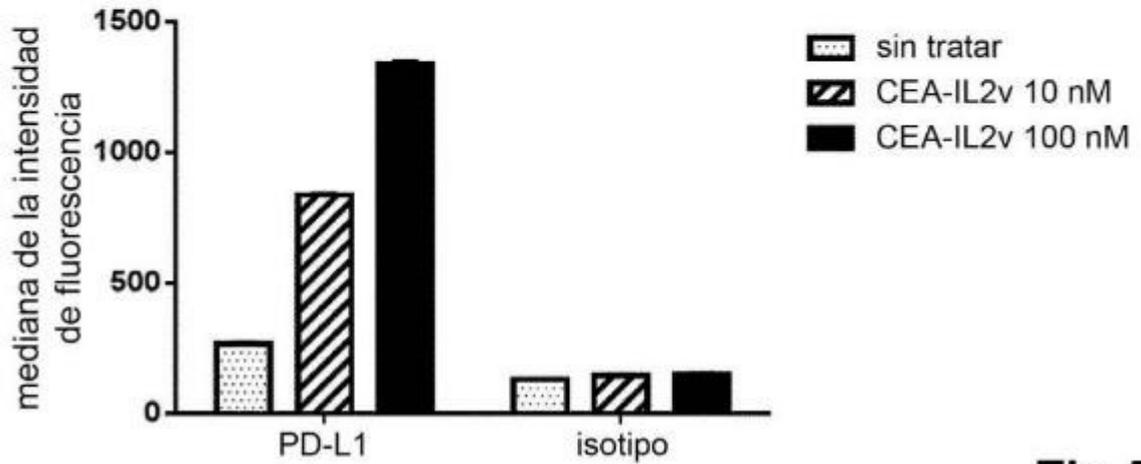
**A**



**B**



**C**



**Fig.5**

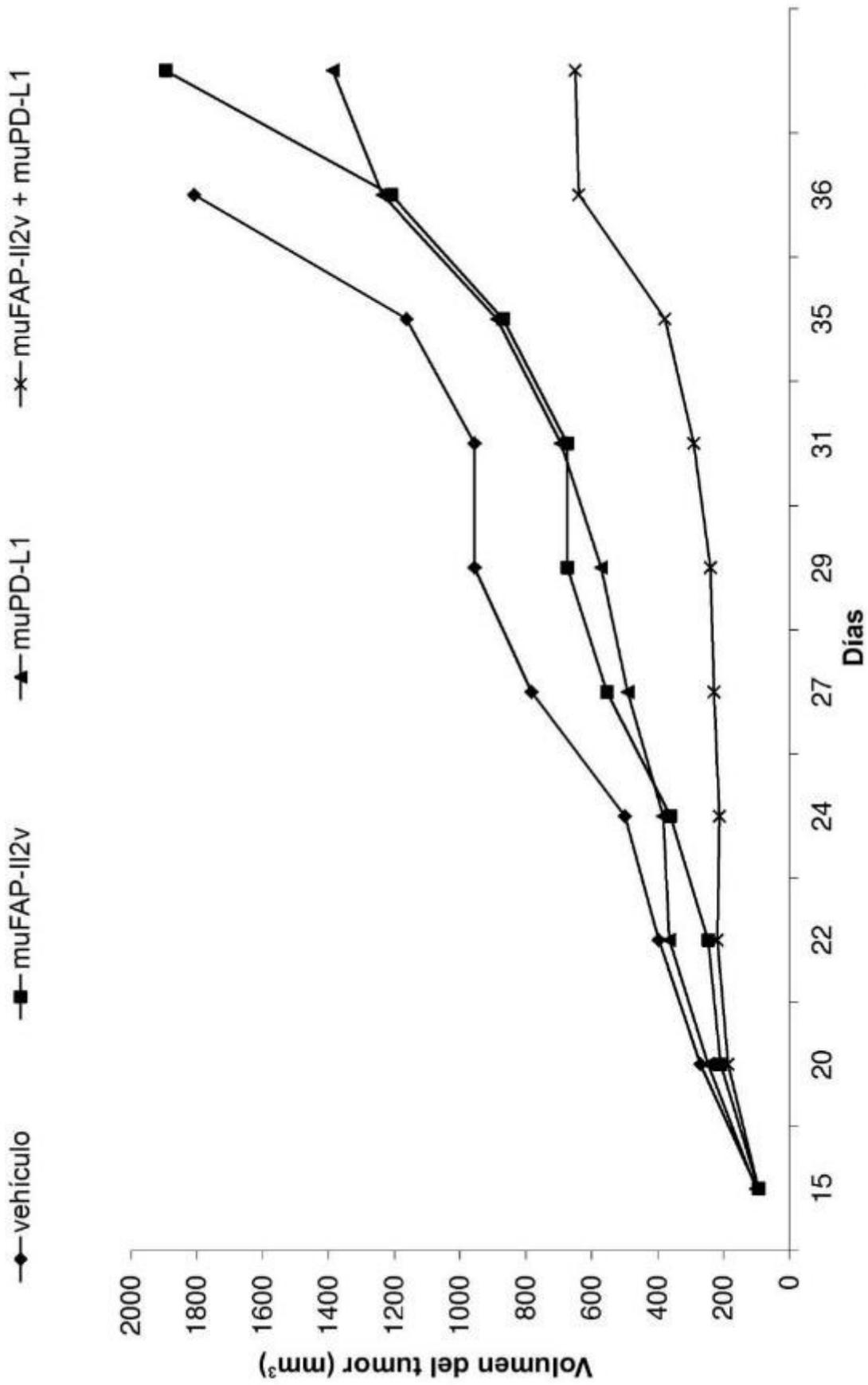


Fig.6A

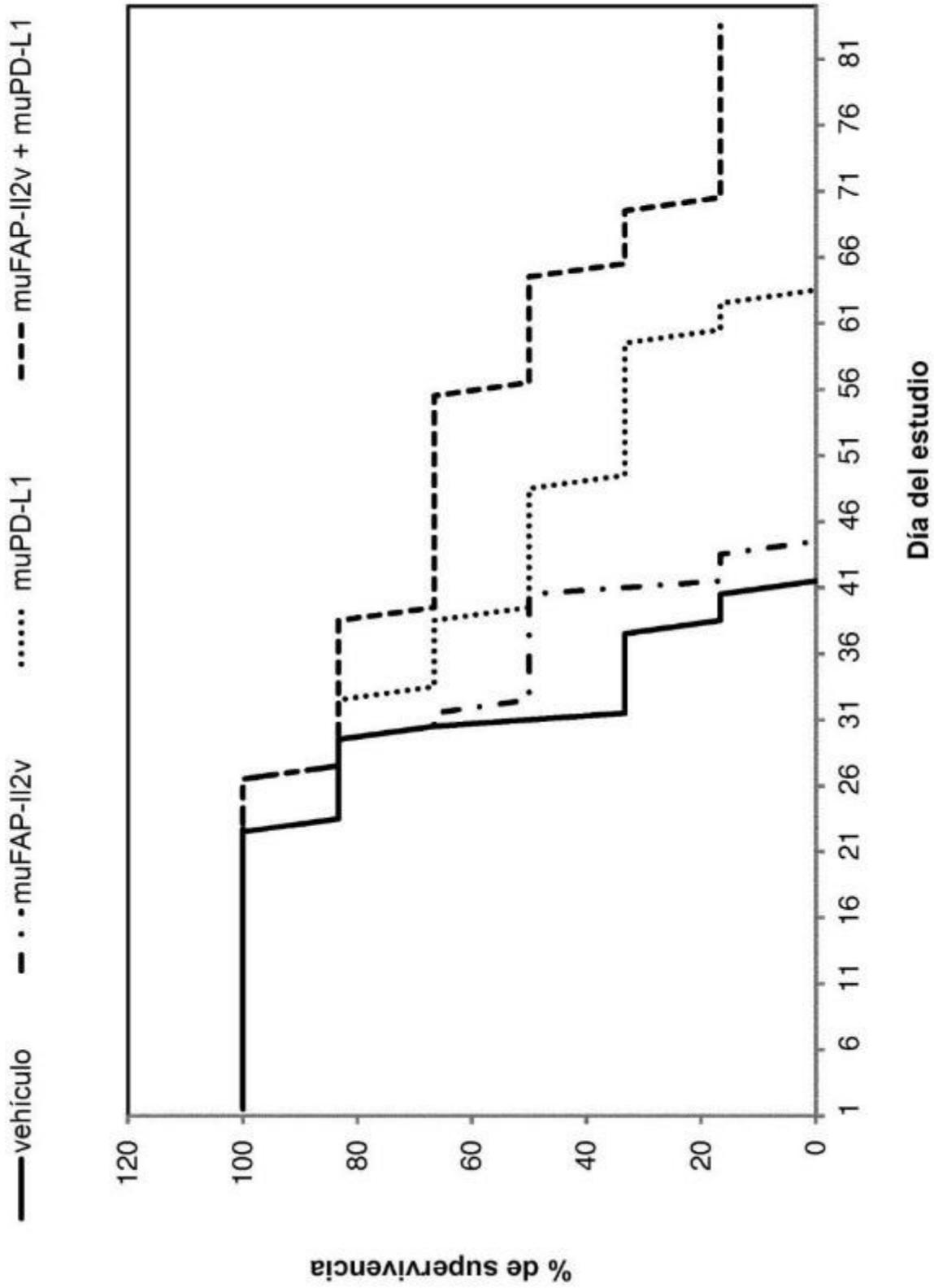


Fig.6B