



No. 13-256654-00000-0000

Fecha: 2013-10-29 17:05:22
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 15

SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO **"NUEVOS INMUNOCONJUGADOS"**

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL **CO7K 14/55**

71. SOLICITANTE **ROCHE GLYCART AG**

DOMICILIO **SCHLIEREN, SUIZA.**

74. REPRESENTANTE LEGAL **ALICIA LLORED A RICAURTE**
T.P. 53.215

22. BOGOTÁ, D.C. **29 OCT 2013**



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



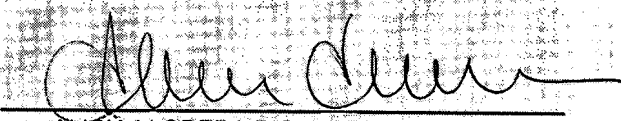
No. 13-256654-00000-0000

Fecha: 2013-10-29 17:05:22 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 15

Indicación

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL -PCT

1	(12) TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☒ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
Solicitud Internacional No.		PCT/EP2012/057587	Fecha 26/04/12
Publicación Internacional No.		WO 2012/146628 A1	Fecha 01/11/12
3	(54) TÍTULO DE LA INVENCION:		
"NUEVOS INMUNOCONJUGADOS"			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (51) CIP		
C07K 14/55			
5	(71) SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN TIPO
4. ROCHE GLYCART AG			
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCIÓN		Wagistrasse 18, CH-8952 Schlieren, Suiza.	
CIUDAD		Schlieren	
DEPARTAMENTO/ESTADO			
PAÍS DE RESIDENCIA		Suiza	
No. TELÉFONO		3264270	
E-MAIL		notificacionespatentes@lloredacamacho.com	
NACIONALIDAD O LUGAR DE CONSTITUCIÓN		Suiza	
7	(72) INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS		NOMBRES	NACIONALIDAD
1. AST	Oliver	Alemania	
2. BRUENKER	Peter	Alemania	
3. HOFER	Thomas U.	Suiza	
4. HOSSE	Ralf	Alemania	
5. KLEIN	Christian	Alemania	
6. MOESSNER	Ekkehard	Alemania	
7. UMANA	Pablo	Costa Rica	
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO: notificacionespatentes@lloredacamacho.com			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
PAÍS RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
Suiza		Bassersdorf	1. Jakob Spaltensteinstrasse 12, CH-8303 Bassersdorf, Suiza.
		Hittnau	2. Burgwiesenstrasse 3c, CH-8335 Hittnau, Suiza.
		Zuerich	3. Buhnrain 8, CH-8052 Zuerich, Suiza.
		Cham	4. Schmiedstrasse 8, CH-6330 Cham, Suiza.
		Bonstetten	5. Chruezacherweg 41, CH-8906 Bonstetten, Suiza.
		Kreuzlingen	6. Felsenburgweg 5, CH-8280 Kreuzlingen, Suiza.
		Wollerau	7. Felsenrainstrasse 28, CH-8832 Wollerau, Suiza.
OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)			
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.			
9	(74) ☒ REPRESENTANTE ☒ APODERADO		
APELLIDOS		NOMBRES	IDENTIFICACIÓN
LLOREDA RICAURTE		ALICIA	C.C 39.690.713 T.P.53.215
DIRECCIÓN		Calle 72 No 5-83 Piso 5to	
CIUDAD		Bogotá	
PAÍS		Colombia	
No. TELÉFONO		3264270	
E-MAIL		notificacionespatentes@lloredacamacho.com	
No. DE PROTOCOLO EN LA OFICINA			

10	(30) DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO			
(33) PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	(31) NÚMERO	(32) FECHA (AAAA/MM/DD)
1. Oficina Europea de Patentes		EP	11164237.7	11/04/29
11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS			
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.</i>				
☐ SI ☒ NO				
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.				
12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES			
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.</i>				
☐ SI ☒ NO				
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.				
13	REDUCCIÓN DE TASAS			
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i>				
☐ SI ☒ NO				
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.				
Micro, pequeñas y medianas empresas		Universidades públicas o privadas	Entidades sin ánimo de lucro	
☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea.		☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación. Acreditación Colciencias.	☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio.	
☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.			☐ Hoja de información complementaria.	
			☐ Otros, especificar	
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☒ SI ☐ NO			
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.				
14	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	N° 13-100840	Fecha 07-10-2013	
15	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL			
Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)				
 ALICIA LLOREDA RICAURTE Representante C.C. 39.690.713 T.P. 53.215 Apoderado				
16	ORDEN Y RELACIÓN DE DOCUMENTOS QUE ACOMPAÑAN LA SOLICITUD			
Documentación Técnica		Documentación Jurídica		
Solicitud Internacional en castellano				
1. ☒ Descripción N° de folios: 182		9. ☒ Poderes, si fuera el caso.		
2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 82		10. ☒ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.		
3. ☒ Dibujos y/o figuras N° folios: 42		11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.		
4. ☒ Resumen.		12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.		
5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.		13. ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal, cuando el solicitante es persona jurídica.		
6. ☒ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso.		14. ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.		
7. ☐ Arte final 12 x 12.		15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad.		
8. ☒ Anexo formato digital.		16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.		
		17. ☐ Comprobante de pago por reivindicaciones adicionales a 10.		

VER ANEXO CD

FC Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA	
		RELACIÓN DE ANEXOS	
Dependencia: 2020		Fecha: 13 / 10 / 29 / AAAA MM DD	Recorrido: 3
Tipo de Radicación: Entrada: ☒ Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐			
Radicador:			Planilla:

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	13-256654=	0	2
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	Soporte Documental
☒	CD
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
16	Otro

Observaciones:
El CD ANEXO CONTIENE UN TOTAL DE 10 ARCHIVOS!
10 EN FORMATO P.D.F, LOS CUALES FUERON PROCESADOS.
UBICADO EN EL FOLIO 3.

ce.

TRADUCCION OFICIAL No. 2013-09-11-459
DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES

Caso 27444

Traspaso

Fotocopia fiel

Yo/Nosotros, el suscrito

Oliver Ast, científico, ciudadano alemán
Chruezacherstrasse 14
CH-8303 Bassersdorf, Suiza

Peter Bruenker, biólogo molecular, ciudadano alemán
Burgwiesentrasse 3c
CH-8335 Hittnau, Suiza

Thomas U. Hofer, investigador científico, ciudadano suizo
Buhnrain 8
CH-8052 Zuerich, Suiza

Ralf Hosse, investigador científico, ciudadano alemán
Schmiedstrasse 6/8
CH-6330 Cham, Suiza

Christian Klein, bioquímico, ciudadano alemán
Chruezacherweg 41
CH-8906 Bonstetten, Suiza

Ekkehard Moessner, investigador científico, ciudadano alemán
Felsenburgweg 5
CH-8280 Kreuzlingen, Suiza

Pablo Umaña, director científico, ciudadano de Costa Rica

Fuhrstrasse 24a
CH-8820 Waedenswil, Suiza

CEDENTE(S), por el presente declaro que soy/somos el inventor(es) único/conjunto de la invención llamada:

Nuevos Inmunoconjugados

para la cual la primera solicitud(es) se presentó así:

<u>País</u>	<u>Fecha de presentación</u>	<u>No. Serial</u>
27444 EP	29.04.2011	11164237.7

y que por una causa contractual adecuada, el recibo y suficiencia de lo cual se reconoce por el presente, yo/nosotros he vendido, cedido y transferido todos los derechos y título a y de dicha invención y de dicha solicitud(es) en todos los países del mundo al CESIONARIO:

Roche Glycart AG
Wagistrasse 18
CH-8952 Schlieren (Suiza)

Se requiere notarización
(Ver las firmas en el otro lado)

El presente traspaso es para, pero no se limita a, los siguientes países:

Argentina, Australia, Austria, Bélgica, Brasil, Canadá, Chile, Colombia, República Checa, Dinamarca, Finlandia, Francia, Alemania, Grecia, Hungría, Irlanda, Israel, Italia, Japón, Kazajstán, Corea, Luxemburgo, México, Mónaco, Holanda, Nueva Zelanda, Noruega, Pakistán, República Popular China, Filipinas, Polonia, Portugal, Rusia, Arabia Saudita, Sur Africa, España, Suecia, Suiza, Taiwán, Turquía, Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte, Ucrania, Uruguay, EE.UU., Venezuela.

En virtud de este traspaso dicho CESIONARIO tiene pleno poder para solicitar y obtener en su propio nombre o en cualquier otro nombre y para sus propios fines y cuenta PATENTE DE

INVENCION en todo el mundo, especialmente en los países anteriormente nombrados, y a reivindicar el derecho de prioridad de la primera solicitud(es) presentada en el país (países) anteriormente nombrado de acuerdo con las convenciones internacionales.

Firmado en Schlieren, Suiza el

(firma: ilegible)	Oliver Ast
(firma: ilegible)	Peter Bruenker
(firma: ilegible)	Thomas U. Hofer
(firma: ilegible)	Ralf Hosse
(firma: ilegible)	Christian Klein
(firma: ilegible)	Ekkehard Moessner
(firma: ilegible)	Pablo Umaña

Certificación Oficial

Visto para autenticación de la firma anterior, colocadas en nuestra presencia por

Señor Ekkehard MÖESSNER, nacido el 20 de abril de 1967, nacionalidad: Alemania, de conformidad con su información residente en Felsenburgweg 5, 8280 Kreuzlingen, identificado con su tarjeta de identidad de Alemania.

Schlieren, 28 de julio de 2011

BK No. 1158

Derechos CHF 20.00

(firma: Ilegible)

Markus Schmid, Notario Asistente

Certificación Oficial

Visto para autenticación de las firmas anteriores, colocadas en nuestra presencia por

Señor Pablo UMAÑA FERNANCEZ, nacido el 23 de septiembre de 1967, nacionalidad: Costa Rica, de conformidad con su información residente en Felsenrainstrasse 28, 8832 Wollerau, identificado con su permiso de residencia B,

Señor Christian KLEIN, nacido el 14 de julio de 1971, nacionalidad: Alemania, de conformidad con su información residente en Chrüzacherweg 41, 8906 Bonstetten, identificado con su tarjeta de identidad de Alemania.

Schlieren, 4 de agosto de 2011

BK No. 1214 + 1215

Derechos CHF 40.00

(firma: Ilegible)

Tobias von Arx, Notario Público Asistente

Certificación Oficial

Visto para autenticación de las firmas anteriores, colocadas en nuestra presencia por

Señor Oliver AST, nacido el 18 de marzo de 1967, nacionalidad: Alemania, de conformidad con su información residente en Chrüzacherstrasse 14, 8303 Bassersdorf, identificado con permiso de residencia B,

Señor Peter BRUENKER, nacido el 10 de octubre de 1963, ciudadano suizo de Hittnau, de conformidad con su información residente en Burgwiesenstrasse 3c, 8335, Hittnau, identificado con su pasaporte.

Señor Thomas U. HOFER, nacido el 6 de junio de 1974, ciudadano suizo de Haldenstein GR, de conformidad con su información residente en Alte Mühleackerstrasse 50, 8046 Zürich, identificado con su tarjeta de identidad.

Señor Ralf HOSSE, nacido el 29 de junio de 1973, nacionalidad: Alemania, de conformidad con su información residente en Schmiedstrasse 8, 6330 Cham, identificado con su tarjeta de identidad de Alemania.

Schlieren, 23 de agosto de 2011

BK No. 1402-1405

Derechos CHF 80.00

(firma: Ilegible)

Markus Schmid, Notario Asistente

Aceptamos este traspaso

Basilea, Suiza, este día 5 de septiembre de 2011

Roche Glycart AG

(firma: Ilegible)

(firma: Ilegible)

Antonio Natoli

Susanne Amann

Signatario autorizado

Signatario autorizado

Fotocopia fiel:

Basilea (Suiza), este día 22 (veintidós) de diciembre de 2011 (dos mil once).

Sello notarial

BV 802/2011

(firma: Ilegible)

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Suiza
Este documento oficial
2. ha sido firmado por Dr. (ilegible) Christoph Nertz
3. actuando como Notario Público
4. y certificado por el sello de la persona anteriormente mencionada

Certificado

5. en Basilea	6. el 27 de diciembre de 2011
7. por la Cancillería de Estado del Cantón de la Ciudad de Basilea	
8. No. 8731 / 18119	
9. Sello/Estampilla Cancillería de Estado Ciudad de Basilea	10. Firma: (ilegible) Hanna Lauener

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 11 de septiembre de 2013, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTORA OFICIAL
RES. 2177/89 MINJUSTICIA


ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

{471800.DOC v.1}5

Assignment

For true photocopy

I/WE, the undersigned

Oliver Ast, scientist, a German citizen
Chruezacherstrasse 14
CH-8303 Bassersdorf, Switzerland

Peter Bruenker, molecular biologist, a German citizen
Burgwiesenstrasse 3c
CH-8335 Hittnau, Switzerland

Thomas U. Hofer, research scientist, a Swiss citizen
Buhnrain 8
CH-8052 Zuerich, Switzerland

Ralf Hosse, research scientist, a German citizen
Schmiedstrasse 6/8
CH-6330 Cham, Switzerland

Christian Klein, biochemist, a German citizen
Chruezacherweg 41
CH-8906 Bonstetten, Switzerland

Ekkehard Moessner, research scientist, a German citizen
Felsenburgweg 5
CH-8280 Kreuzlingen, Switzerland

Pablo Umaña, chief scientific officer, a Costa Rican citizen
Fuhrstrasse 24a
CH-8820 Waedenswil, Switzerland

ASSIGNOR(S), herewith declare that I am/we are the sole/joint inventor(s) of the invention entitled:

Novel Immunoconjugates

for which the first application(s) was (were) filed as follows:

<u>Country</u>	<u>Filing date</u>	<u>Serial No.</u>
27444 EP	29.04.2011	11164237.7

and that for good and valuable consideration, the receipt and sufficiency of which is hereby acknowledged, I/WE have sold, assigned and transferred all rights and title to and from the said invention and from the said application(s) in all countries of the world to the ASSIGNEE:

Roche Glycart AG
Wagistrasse 18,
CH-8952 Schlieren(Switzerland)

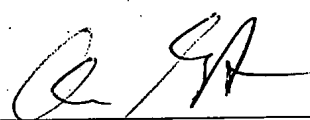
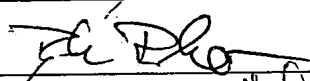
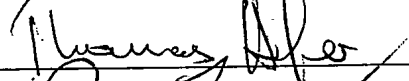
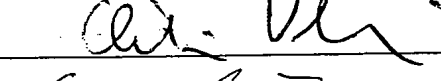
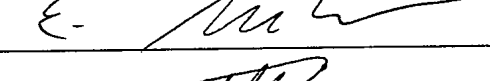
Notarization required
(signatures see reverse side)

The present assignment is for, but is not limited to the following countries:

Argentina, Australia, Austria, Belgium, Brazil, Canada, Chile, Colombia, Czech Republic, Denmark, Finland, France, Germany, Greece, Hungary, Ireland, Israel, Italy, Japan, Kazakhstan, Korea, Luxembourg, Mexico, Monaco, Netherlands, New Zealand, Norway, Pakistan, People's Republic of China, Philippines, Poland, Portugal, Russia, Saudi Arabia, South Africa, Spain, Sweden, Switzerland, Taiwan, Turkey, United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland, Ukraine, Uruguay, U.S.A., Venezuela.

By virtue of this assignment the said ASSIGNEE is fully entitled to apply for and obtain in their own name or in any other name and for their own purposes and account LETTERS PATENT in the whole world, especially in the above-named countries, and to claim therefor the right of priority of the first filed application(s) in the above-named country (countries) in accordance with international conventions.

Signed at Schlieren, Switzerland on

	Oliver Ast
	Peter Bruenker
	Thomas U. Hofer
	Ralf Hosse
	Christian Klein
	Ekkehard Moessner
	Pablo Umaña

Official Certification

Seen for authentication of the reverse side signature, affixed in our presence by

Mr. **Dr. Ekkehard MÖSSNER**, born 20th April 1967, Nationality: Germany, according to his information residing at Felsenburgweg 5, 8280 Kreuzlingen, identified by German identity card.

Schlieren, 28th July 2011

BK no. 1158

Fee CHF 20.00



NOTARIAT SCHLIEREN

M. Schmid
Markus Schmid, Notariatsassistent

Official Certification

Seen for authentication of the foregoing signatures, affixed in our presence by

Mr. **Pablo UMANA FERNANDEZ**, born 23rd September 1967, Nationality: Costa Rica, according to his information residing at Felsenrainstrasse 28, 8832 Wollerau, identified by residence permit B,

Mr. **Christian KLEIN**, born 14th July 1971, Nationality: Germany, according to his information residing at Chrüzacherweg 41, 8906 Bonstetten, identified by German identity card.

Schlieren, 4th August 2011

BK no. 1214 + 1215

Fee CHF 40.00



NOTARIAT SCHLIEREN

Tobias von Arx
Tobias von Arx, Deputy Notary Public

Official Certification

Seen for authentication of the reverse side signatures, affixed in our presence by

Mr. **Oliver AST**, born 18th March 1967, Nationality: Germany, according to his information residing at Chrüzacherstrasse 14, 8303 Bassersdorf, identified by residence permit B,

Mr. **Peter BRUENKER**, born 10th October 1963, Swiss citizen of Hittnau, according to his information residing at Burgwiesenstrasse 3c, 8335 Hittnau, identified by passport,

Mr. **Thomas U. HOFER**, born 6th June 1974, Swiss citizen of Haldenstein GR, according to his information residing at Alte Mühleackerstrasse 50, 8046 Zürich, identified by identity card,

Mr. **Ralf HOSSE**, born 29th June 1973, Nationality: Germany, according to his information residing at Schmiedstrasse 8, 6330 Cham, identified by German identity card.

Schlieren, 23rd August 2011
BK no. 1402-1405
Fee CHF 80.00

NOTARIAT SCHLIEREN


Markus Schmid, Notariatsassistent

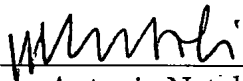


We accept this assignment

Basle, Switzerland, this

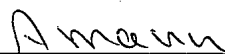
5 day of September 2011

Roche Glycart AG



Antonio Natoli

Authorized signatory

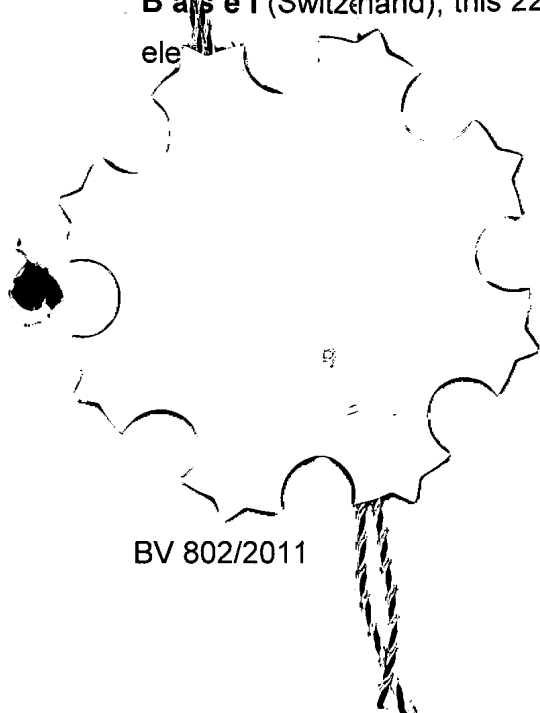


Susanne Amann

Authorized signatory

For true photocopy:

Basel (Switzerland), this 22nd (twenty-second) day of December 2011 (two thousand and eleven)



M. J. J. J.

BV 802/2011

APOSTILLE
(Hague Convention of October 5th, 1961)

1. Country: Switzerland (Schweiz / Suisse)
This official document

2. is signed by *Dr. iur. Christoph Neri*

3. in his/her function as *notary public*

4. and certified by the seal of the *above mentioned*

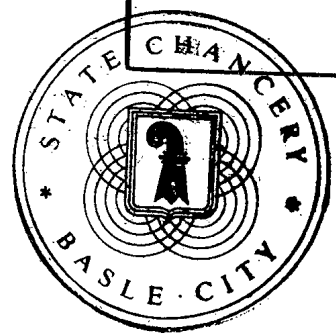
Certified

5. in Basel (Bâle) 6. on *27. Dez. 2011*

7. by the State Chancery of the Canton of Basel-Stadt

8. no. *8231 / 18 119*

9. Seal / stamp: 10. Signature: *H. Lauener*
Hanna Lauener



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

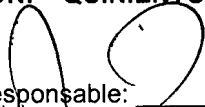
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 13 - 100840
		Bogotá D.C., Octubre 07 de 2013 - 16:44:19

RECIBIDO DE : LLOREDA & CIA. S.A.	NI 830.022.145

*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	590198733	07/10/2013	13.481.000.00

*** Conceptos Pagados ***			
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr. UNIDITARIO Vr. CONCEPTO
1 50005-01-01	SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	500.000.00 500.000.00
			===== \$500.000.00 =====

SON: **QUINIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: 

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-256654- -00000-0000
Fecha: 2013-10-29 17:05:22 Dep. 2020 DIR.NUEVASOR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 15

PATENTE DE INVENCION ☐ MODELO DI

Fecha: 2013-10-29 17:05:22 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 15

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☒	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☒	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ (Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ (Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

NUEVOS INMUNOCONJUGADOS

RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

La presente invención en general está relacionada con inmunoconjugados específicos de antígeno para la liberación selectiva de porciones efectoras que influyen en la actividad celular. Más específicamente, la invención proporciona nuevos inmunoconjugados que comprenden una primera porción de unión a antígeno, un dominio Fc y una única porción efectora. Además, la presente invención está relacionada con los polinucleótidos que codifican tales inmunoconjugados, y con los vectores y células huésped que comprenden tales polinucleótidos. La invención además está relacionada con los métodos para producir los inmunoconjugados de la invención, y con los métodos de utilización de estos inmunoconjugados en el tratamiento de una enfermedad.

SECTOR: Inmunoconjugados específicos de antígeno para liberar de forma selectiva porciones efectoras que influyen en la actividad celular, métodos de preparación y composiciones farmacéuticas que los comprenden.

NUEVOS INMUNOCONJUGADOS

Campo de la Invención

La presente invención está relacionada en general con inmunoconjugados específicos de antígeno para liberar de forma selectiva porciones efectoras que influyen en la actividad celular. Además, la presente
5 invención está relacionada con polinucleótidos que codifican dichos inmunoconjugados, y vectores y células huésped que comprenden dichos polinucleótidos. La invención además está relacionada con métodos para producir los inmunoconjugados de la invención, y con métodos para utilizar estos inmunoconjugados en el tratamiento de una enfermedad.

10 **Antecedentes**

La destrucción selectiva de una célula individual o un tipo de célula específico es a menudo deseable en una serie de ajustes clínicos. Por ejemplo, es un objetivo primario de la terapia contra el cáncer destruir de forma específica las células tumorales, mientras que deja las células y tejidos sanos intactos y sin
15 dañar. Una gran cantidad de rutas de señales de transducción en la célula están unidas a la supervivencia de la célula y/o la muerte. De este modo, la liberación directa de un factor de la ruta involucrada en la supervivencia celular o muerte puede utilizarse para contribuir al mantenimiento o destrucción de la célula. De forma similar, los factores específicos pueden liberarse para estimular a las
20 células inmunitarias efectoras en un microambiente tumoral, como células natural killer (NK) o linfocitos T citotóxicos (CTL), para atacar y destruir células tumorales.

Las citoquinas son moléculas de señalización tumoral que participan en la regulación del sistema inmunitario. Cuando se utiliza en la terapia contra el
25 cáncer, las citoquinas pueden actuar como agentes inmunomoduladores que

poseen efectos antitumorales y que pueden aumentar la inmunogenicidad de algunos tipos de tumores. No obstante, el aclaramiento rápido de la sangre y la falta de especificidad de tumor requiere la administración sistémica de altas dosis de la citoquina para lograr una concentración de la citoquina en el lugar
5 del tumor suficiente para activar una respuesta inmune o posee un efecto antitumoral. Estos altos niveles de citoquina sistémica puede conducir a una toxicidad severa y reacciones adversas.

Para utilizar en terapia, es deseable por lo tanto liberar de forma específica un factor de señal de transducción, como una citoquina, hacia un
10 lugar específico *in vivo* (por ejemplo, un tumor o microambiente tumoral en el caso de una terapia contra el cáncer). Esto puede lograrse conjugando el factor con una porción diana, por ejemplo, un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo, específico para el sitio. Las estrategias primarias pensadas para liberar los factores de la ruta de transducción de señales, como las citoquinas, hacia un
15 lugar específico *in vivo* que incluye cadenas pesadas de inmunoglobulina conjugadas con varias citoquinas, que incluye linfotoxina, factor- α de necrosis tumoral (TNF- α), interleucina-2 (IL-2), y factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) (revisado por ejemplo, en Lode et al., Pharmacol Ther 80, 277-292 (1998)).

20 Los investigadores observaron que, no solo fueron capaces de localizar citoquinas en lugares específicos *in vivo*, sino que también fueron capaces de tomar ventaja del hecho que los anticuerpos monoclonales poseen vidas medias en suero más largas que la mayoría del resto de proteínas. Dada la toxicidad sistémica asociada con altas dosis de ciertas citoquinas no conjugadas, por
25 ejemplo, IL-2, la capacidad de una proteína de fusión inmunoglobulina-citoquina para maximizar las actividades biológicas terapéuticamente beneficiosas en el lugar deseado, por ejemplo, en un tumor, mientras se mantiene los efectos

secundarios sistémicos a un nivel mínimo a una dosis baja haciendo creer a los investigadores que los inmunoconjugados inmunoglobulina-citoquina fueron agentes terapéuticos óptimos.

Sin embargo, existen ciertas desventajas asociadas con los
5 inmunoconjugados inmunoglobulina-citoquina conocidos en la materia. Por ejemplo, estos inmunoconjugados poseen al menos una citoquina acoplada a cada una de las dos cadenas pesadas de inmunoglobulina, lo que resulta en un inmunoconjugado con unión a dianas bivalentes y dos o más porciones de citoquina (revisada por ejemplo, en Chang et al., *Expert Opin Drug Discovery* 4,
10 181-194 (2009), o Ortiz-Sanchez et al., *Expert Opin Biol Ther* 8, 609-632 (2008)). La Figura 1 describe un inmunoconjugado convencional inmunoglobulina-citoquina como se conoce en la materia, cuando una citoquina está fusionada con el C-terminal de cada una de las dos cadenas pesadas de anticuerpo. Debido a la presencia de dos o más porciones de citoquina, dicho
15 inmunoconjugado posee una alta avidéz con los correspondientes receptores de citoquina (por ejemplo, afinidad picomolar en el caso de IL-2), y así es localizado en lugar de las células inmunoefectoras que expresan el receptor de citoquina en lugar del antígeno de la inmunoglobulina (afinidad nM) al que la citoquina está unido. Además, los inmunoconjugados convencionales se conocen por
20 estar asociados con reacciones de infusión (véase por ejemplo, King et al., *J Clin Oncol* 22, 4463-4473 (2004)), lo que resulta al menos parcialmente de la activación de los receptores de citoquina sobre las células inmuno efectoras en sangre periférica por las porciones de citoquina inmunoconjugadas.

De forma adicional, mediante su dominio Fc, los inmunoconjugados
25 inmunoglobulina-citoquina pueden activar el complemento e interactuar con los receptores de Fc. Esta característica inherente de las inmunoglobulinas se ha visto como algo desfavorable debido a que los inmunoconjugados

terapéuticos pueden dirigirse a las células que expresan los receptores de Fc en lugar de hacia las células portadoras de antígeno preferibles. Además, la activación simultánea de receptores de citoquina y las rutas de señalización de receptores de Fc que conducen a la liberación de citoquina, especialmente en
5 combinación con las proteínas de fusión de inmunoglobulina de vida media larga, que hacen su aplicación difícil en un ajuste terapéutico debido a su toxicidad sistémica.

Una aproximación para superar este problema es el uso de fragmentos de inmunoglobulina desprovistos de un dominio Fc, como fragmentos scFv o
10 Fab, en inmunoconjugados. Ejemplos de inmunoconjugados de fragmento de inmunoglobulina-citoquina incluye el inmunoconjugado scFv-IL-2 tal como se indica en la publicación PCT WO 2001/062298, el inmunoconjugado scFv-IL-12-scFv tal como se indica en la publicación PCT WO 2006/119897 (en la que cada uno de los dos fragmentos scFv está conectado a una subunidad del
15 heterodímero IL-12 que está unido por puentes disulfuro) o los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab tal como se indica en la publicación PCT WO 2011/020783. La reactividad de unión a tumor de la molécula parental de inmunoglobulina y la actividad funcional de la citoquina se mantienen en la mayoría de estos tipos de inmunoconjugados, no obstante la vida media de tales
20 construcciones es considerablemente más corto que las proteínas de fusión de inmunoglobulina.

Por lo tanto permanece una necesidad de inmunoconjugados con propiedades mejoradas, para una mayor efectividad terapéutica y una reducción en el número y gravedad de los efectos secundarios de estos productos (por
25 ejemplo, toxicidad, destrucción de células no tumorales, etc.).

La presente invención proporciona inmunoconjugados similares a inmunoglobulina que presentan una eficacia mejorada, alta especificidad de

acción, toxicidad reducida, y vida media mejorada y estabilidad en sangre relacionada con los inmunoconjugados conocidos.

Resumen de la invención

La presente invención está basada, en parte, en el reconocimiento de los inventores que los inmunoconjugados que comprenden más de una porción 5 efectora, como por ejemplo, una citoquina, puede localizarse con el correspondiente receptor de la porción efectora en lugar de la diana de antígeno de la porción de unión a antígeno del inmunoconjugado. Por lo tanto, en un aspecto la invención proporciona un inmunoconjugado que comprende una 10 primera porción de unión a antígeno, un dominio Fc que consiste de dos subunidades, y una porción efectora, en la que no más de una porción efectora está presente. En una realización la porción efectora está fusionada con el aminoácido amino- o carboxi-terminal de una de las dos subunidades del dominio Fc, opcionalmente a través de un péptido enlazante. En una realización 15 la primera porción de unión a antígeno está fusionada con el aminoácido amino-terminal de una de las dos subunidades del dominio Fc, opcionalmente a través de un péptido enlazante o una región bisagra de inmunoglobulina.

En una realización la primera porción de unión un antígeno comprende un dominio de unión a antígeno de un anticuerpo. En una realización particular la 20 primera porción de unión a antígeno es una molécula Fab. En ciertas realizaciones el dominio Fc comprende una modificación que promueve la heterodimerización de dos cadenas de polipéptido no idénticas. En una realización específica dicha modificación es una modificación botón en ojal, que comprende una modificación de botón en una de las subunidades del dominio 25 Fc y una modificación de ojal en la otra subunidad del dominio Fc. En una realización particular la porción efectora está fusionada con el aminoácido amino- o carboxi-terminal de la subunidad del dominio Fc que comprende la

modificación de botón.

En una realización el dominio Fc es un dominio Fc de IgG, particularmente un dominio Fc de IgG₁. En una realización particular el dominio Fc es humano.

- 5 En ciertas realizaciones de la invención el dominio Fc está diseñado para tener una unión alterada hacia un receptor Fc, unión específicamente alterada hacia un receptor Fc γ , y/o función efectora alterada, específicamente citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (CCDA).

- Aunque la presencia de un dominio Fc es esencial para prolongar la vida media del inmunoconjugado, los inventores se han dado cuenta que en algunas situaciones será beneficioso eliminar las funciones efectoras asociadas con la unión de los receptores de Fc por el dominio Fc. Por lo tanto, en realizaciones particulares la unión alterada a un receptor de Fc y/o función efectora es una unión y/o función efectora reducida. En una realización específica el dominio Fc
- 10 comprende una o más mutaciones de aminoácido que reduce la unión del dominio Fc a un receptor Fc, en particular un receptor Fc γ . Preferiblemente, dicha mutación de aminoácido no reduce la unión a receptores FcRn. En una realización el dominio Fc comprende una sustitución de aminoácido en la posición P329. En una realización particular el dominio Fc comprende las
- 15 sustituciones de aminoácido L234A, L235A y P329G en cada una de sus subunidades.
- 20

- Por otro lado, habrán situaciones en las que es deseable aumentar las funciones efectoras de los inmunoconjugados. Así, en ciertas realizaciones el dominio Fc del inmunoconjugado de la invención está diseñado para tener
- 25 alterada la unión a un receptor Fc, específicamente un receptor Fc γ , más específicamente un receptor Fc γ IIIa, y/o función efectora alterada, en la que la

unión alterada y/o función efectora es una unión y/o función efectora aumentada. En dicha realización el dominio Fc está modificado para tener una estructura de oligosacárido alterada, en comparación con un dominio Fc no modificado. En una realización particular el dominio Fc comprende una proporción aumentada

5 de oligosacáridos no fucosilados, en comparación con un dominio Fc no modificado. En una realización más específica el dominio Fc comprende al menos un 20%, en particular al menos un 50%, más en particular al menos un 70% de oligosacáridos no fucosilados. En otra realización específica el dominio Fc comprende una proporción aumentada de oligosacáridos bisectados, en

10 comparación con un dominio Fc no modificado. En aún otra realización específica el dominio Fc comprende una proporción aumentada de oligosacáridos no fucosilados bisectados, en comparación con un dominio Fc no modificado. En algunas realizaciones dicha estructura de oligosacárido alterada resulta de un aumento de la actividad $\beta(1,4)$ -N-acetilglucosaminiltransferasa III

15 (GnTIII) en una célula huésped utilizada para la expresión del inmunoconjugado.

En un aspecto particular, la invención proporciona inmunoconjugados que comprenden una primera y una segunda porción de unión a antígeno, un dominio Fc que consta de dos subunidades, y una porción efectora, en la que no más de una porción efectora está presente. En una realización la primera y la

20 segunda porción de unión a antígeno y el dominio Fc son parte de una molécula de inmunoglobulina. En ciertas realizaciones el inmunoconjugado consiste en esencia de una molécula de inmunoglobulina y una porción efectora y opcionalmente una o más secuencias enlazantes. En una realización particular la molécula de inmunoglobulina es una inmunoglobulina de clase IgG. En una

25 realización aún más particular la inmunoglobulina es una subclase de inmunoglobulina de IgG₁. En una realización la porción efectora está fusionada con el aminoácido carboxi-terminal de una de las cadenas pesadas de inmunoglobulina, opcionalmente a través de un péptido enlazante.

En una realización particular el inmunoconjugado de la invención comprende una molécula de inmunoglobulina que comprende dos porciones de unión a antígeno y un dominio Fc, y una porción efectora fusionada con el aminoácido carboxi-terminal de una de las cadenas pesadas de inmunoglobulina, en las que no más de una porción efectora está presente y en las que el dominio Fc está modificado para tener una unión reducida a un receptor Fc, específicamente alterada la unión a un receptor Fc γ , y/o función efectora reducida.

En ciertas realizaciones dicha primera porción de unión a antígeno, o dicha primera y dicha segunda porción de unión a antígeno, está dirigida a un antígeno asociado con una condición patológica, como un antígeno presentado sobre una célula tumoral o en un ambiente celular tumoral, en el lugar de la inflamación, o sobre una célula infectada con virus. En una realización más específica dicho antígeno está seleccionado a partir del grupo de proteína de activación de fibroblastos (FAP), el dominio A1 de Tenascina-C (TNC A1), el dominio A2 de Tenascina-C (TNC A2), el dominio extra B de fibronectina (EDB), antígeno carcinoembrionario (CEA), y condroitin sulfato proteoglicano asociado a melanoma (MCSP).

En ciertas realizaciones la porción efectora es una porción efectora de cadena sencilla. En una realización particular la porción efectora es una citoquina. En una realización dicha citoquina está seleccionada del grupo de IL-2, IL-7, IL-10, IL-12, IL-15, IFN- α y IFN- γ . En una realización particular dicha citoquina es IL-2. En aún una realización más particular dicha citoquina es un polipéptido mutante IL-2 con una afinidad de unión reducida a la subunidad α del receptor de IL-2. En una realización específica dicho polipéptido mutante de IL-2 comprende una sustitución de aminoácidos en una o más posiciones seleccionadas de las posiciones que corresponden con los residuos 42, 45 y 72

de la IL-2 humana. En otra realización particular la citoquina es IL-10. En aún otra realización, la citoquina es IL-15, en particular un polipéptido mutante de IL-15 con una afinidad de unión reducida hacia la subunidad α del receptor IL-15. En otra realización, la citoquina es IFN- α .

- 5 De acuerdo con otro aspecto de la invención se proporciona un polinucleótido aislado que codifica un inmunoconjugado de la invención o un fragmento del mismo. La invención proporciona además un vector de expresión que comprende el polinucleótido aislado de la invención, y una célula huésped que comprende el polinucleótido aislado o el vector de expresión de la invención.
- 10 En algunas realizaciones la célula huésped es una célula eucariota, en particular una célula de mamífero. En algunas realizaciones, la célula huésped se ha manipulado para expresar niveles aumentados de uno o más polipéptidos que poseen actividad $\beta(1,4)$ -N-acetilglucosaminiltransferasa III (GnTIII). En una de estas realización la célula huésped se ha manipulado además para expresar
- 15 niveles aumentados de uno o más polipéptidos con actividad α -manosidasa II (ManII).

- En otro aspecto se proporciona un método para producir los inmunoconjugados de la invención, que comprenden los pasos de a) cultivar la célula huésped de la invención bajo condiciones adecuadas para la expresión
- 20 del inmunoconjugado y b) recuperar el inmunoconjugado. La invención también comprende un inmunoconjugado producido por el método de la invención.

La invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende un inmunoconjugado de la invención y un transportador farmacéuticamente aceptable.

- 25 También están comprendidos por la invención los métodos para utilizar los inmunoconjugados y las composiciones farmacéuticas de la invención. En un

aspecto la invención proporciona un inmunoconjugado o una composición farmacéutica de la invención para utilizar como medicamento. En un aspecto se proporciona un inmunoconjugado o una composición farmacéutica de acuerdo con la invención para utilizar en el tratamiento de una enfermedad en un individuo que lo necesita. En una realización específica la enfermedad es el cáncer. En otras realizaciones la enfermedad es un trastorno inflamatorio. En una realización particular el inmunoconjugado comprende una porción efectora IL-10.

También se proporciona el uso de un inmunoconjugado de la invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad en un individuo que la necesita; así como un método para tratar una enfermedad en un individuo, que comprende la administración a dicho individuo una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición que comprende el inmunoconjugado de acuerdo con la invención en una forma farmacéuticamente aceptable. En una realización específica la enfermedad es el cáncer. En otras realizaciones la enfermedad es un trastorno inflamatorio. En una realización particular el inmunoconjugado comprende una porción efectora IL-10.

En cualquiera de las realizaciones anteriores el individuo preferiblemente es un mamífero, en particular un humano.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un conjugado que comprende una primera molécula de Fab que no se une específicamente a ningún antígeno, un dominio Fc que consiste en dos subunidades, y una porción efectora, en la que no está presente más que una porción efectora. En una forma de realización particular, la primera molécula Fab comprende la secuencia de la región variable de la cadena pesada de Id. de Sec. N°: 299 y la secuencia de la región variable de la cadena ligera de Id. de Sec. N°: 297. En una realización, el conjugado comprende (i) una molécula de inmunoglobulina, que

comprende una primera y una segunda molécula de Fab que no se unen específicamente a ningún antígeno y un dominio Fc, y (ii) una porción efectora, en la que no más de una porción efectora está presente. En una realización, la molécula de inmunoglobulina es una inmunoglobulina de clase IgG, en particular

5 una inmunoglobulina de subclase IgG1. En una forma de realización particular, la molécula de inmunoglobulina comprende la secuencia de la cadena pesada de la región variable de Id. de Sec. N°: 299 y la secuencia de la región variable de la cadena ligera de Id. de Sec. N°: 297. Específicamente, la secuencia de la región variable de la cadena pesada de Id. de Sec. N°: 299 y la secuencia de la

10 región variable de la cadena ligera de Id. de Sec. N°: 297 están comprendidas en la primera y la segunda molécula de Fab de la molécula de inmunoglobulina. En una realización, la porción efectora se fusiona con el aminoácido carboxi-terminal de una de las cadenas pesadas de inmunoglobulina, opcionalmente a través de un péptido enlazante. En algunas realizaciones, el dominio Fc del

15 conjugado está diseñado para tener reducida la unión a un receptor Fc, reduce unirse específicamente a un receptor Fc α , y/ o reducción de la función efectora, reducido específicamente la CCDA. En una realización particular, el dominio Fc del conjugado comprende las sustituciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G en cada una de sus subunidades. En ciertas realizaciones, el dominio Fc

20 del conjugado comprende una modificación que promueve la heterodimerización de las cadenas polipeptídicas no idénticas. En una realización específica, dicha modificación es una modificación botón en ojal, que comprende una modificación de tipo botón en una de las subunidades del dominio Fc y una modificación de tipo ojal en la otra subunidad del dominio Fc. En una realización

25 particular, la porción efectora está fusionada con el aminoácido del extremo amino o carboxi de la subunidad del dominio Fc que comprende la modificación de tipo botón. En una realización, la porción efectora es una citoquina, en particular IL-2. Además, el conjugado puede incorporar, solo o en combinación,

cualquiera de las características que se describen en este documento en relación con los formatos, el dominio Fc o la porción efectora de los inmunoconjugados de la invención.

La invención también proporciona un polinucleótido aislado que codifica el
5 conjugado de la invención de un fragmento de la misma. En una realización
específica, el polinucleótido aislado comprende una secuencia que es al menos
aproximadamente idéntica en un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99 % o
100% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 298 o Id. de Sec. N°: 300. La invención
proporciona además un vector de expresión que comprende el polinucleótido
10 aislado, y una célula huésped que comprende el polinucleótido aislado o el
vector de expresión de la invención. En otro aspecto, se proporciona un método
para producir el conjugado de la invención, que comprende los pasos de a)
cultivar la célula huésped de la invención en condiciones adecuadas para la
expresión del conjugado y b) recuperar el conjugado. La invención también
15 abarca un conjugado producido por el método de la invención.

La invención proporciona además una composición farmacéutica que
comprende el conjugado de la invención y un vehículo farmacéuticamente
aceptable. Además, el conjugado se puede emplear en los métodos de uso
decrritos en el presente documento para los inmunoconjugados de la invención.

20 **Breve descripción de las figuras**

FIGURA 1. Representación esquemática de un inmunoconjugado
inmunoglobulina-citoquina típico tal como se conoce en la materia, con una
citoquina (punteado) fusionada con el extremo C-terminal de cada una de las
dos cadenas pesadas de inmunoglobulina.

25 FIGURA 2. Representación esquemática de nuevos inmunoconjugados
de acuerdo con la invención, que no comprenden más de una porción efectora

(punteado). La porción efectora está fusionada, opcionalmente a través de un péptido enlazante (cajas grises) al extremo carboxi-terminal (formato A y B) o el aminoácido amino-terminal (formato C) del dominio Fc. El inmunoconjugado comprende una porción de unión a antígeno (formato B y C) o más
 5 (normalmente dos, formato A), que pueden ser fragmentos Fab que comprenden dominios variable de cadena pesada y ligera de anticuerpo (sombreado). El dominio Fc puede comprender una modificación que promueve la heterodimerización de dos cadenas no idénticas de polipéptido (punto negro) y/o una modificación que altera la unión del receptor de Fc y/o función efectora
 10 (estrella negra).

FIGURA 3. Purificación de inmunoconjugado IgG-IL-2 basado en 4G8 cuádruple mutante (qm) dirigido a FAP. A) Perfil de elución del paso de cromatografía de afinidad de la Proteína A. B) Perfil de elución del paso de cromatografía de exclusión por tamaño. C) Análisis por SDS-PAGE (NuPAGE
 15 Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, tampón de reacción MOPS) del producto final. D) Análisis de la cromatografía de exclusión por tamaño del producto final sobre una columna Superdex 200 (contenido de monómero del 97%).

FIGURA 4. Purificación del inmunoconjugado qm IgG-IL- basado en 28H1 dirigido a 2FAP. A) Perfil de elución del paso de cromatografía de afinidad de la Proteína A. B) Perfil de elución del paso de cromatografía de exclusión por tamaño. C) Análisis por SDS-PAGE (reducida: NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, tampón de reacción MOPS; no reducida: NuPAGE Tris-Acetato, Invitrogen, tampón de reacción Tris-Acetato) del producto final. D) Análisis de la cromatografía de exclusión por tamaño del producto final sobre una columna
 25 Superdex 200 (contenido de monómero del 100%).

FIGURA 5. Purificación de inmunoconjugado de IgG-IL-2 qm basado en 28H1 dirigido contra FAP a partir de células CHO. A) Perfil de elución del paso

de cromatografía de afinidad de la Proteína A. B) Perfil de elución del paso de cromatografía de exclusión por tamaño. C) Análisis por SDS-PAGE (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, tampón de reacción MOPS) del producto final. D) Análisis de la cromatografía de exclusión por tamaño del producto final sobre una columna Superdex 200 (contenido de monómero del 100%).

FIGURA 6. Purificación de inmunoconjugado de IgG-IL-2 qm basado en 4B9 dirigido contra FAP a partir de células CHO. A) Perfil de elución del paso de cromatografía de afinidad de la Proteína A. B) Perfil de elución del paso de cromatografía de exclusión por tamaño. C) Análisis por SDS-PAGE (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, tampón de reacción MOPS) del producto final. D) Análisis de la cromatografía de exclusión por tamaño del producto final sobre una columna Superdex 200 (contenido de monómero del 100%).

FIGURA 7. Purificación de inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en CH1A1A 98/99 2F1 dirigido contra CEA. A) Perfil de elución del paso de cromatografía de afinidad de la Proteína A. B) Perfil de elución del paso de cromatografía de exclusión por tamaño. C) Análisis de la electroforesis SDS capilar (Caliper) del producto final. D) Análisis de la cromatografía de exclusión por tamaño del producto final sobre una columna TSKgel G3000 SW XL (contenido de monómero del 98,8%).

FIGURA 8. Purificación de inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 2B10 dirigido contra TNC A2. A) Perfil de elución del paso de cromatografía de afinidad de la Proteína A. B) Perfil de elución del paso de cromatografía de exclusión por tamaño. C) Análisis de la electroforesis SDS capilar (Caliper) del producto final. D) Análisis de la cromatografía de exclusión por tamaño del producto final sobre una columna TSKgel G3000 SW XL (contenido de monómero del 100%).

FIGURA 9. Purificación de inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en DP47GS no dirigido. A) Perfil de elución del paso de cromatografía de afinidad de la Proteína A. B) Perfil de elución del paso de cromatografía de exclusión por tamaño. C) Análisis por SDS-PAGE (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, 5 Invitrogen, tampón de reacción MOPS) del producto final. D) Análisis de la cromatografía de exclusión por tamaño del producto final sobre una columna Superdex 200 (contenido de monómero del 100%).

FIGURA 10. Unión de inmunoconjugado IgG-IL-2 qm dirigidos a FAP basados en 4G8 hacia FAP humano expresado sobre células HEK 293 10 transfectadas de forma estable tal como se mide mediante FACS, en comparación con la construcción que corresponde a Fab-IL-2 qm-Fab.

FIGURA 11. Interferón (IFN)- γ liberación sobre células NK92 inducido por inmunoconjugado qm IgG-IL-2 basados en 4G8 dirigidos a FAP en solución, en comparación con la construcción Fab-IL-2 qm-Fab basada en 28H1.

15 FIGURA 12. Detección de STAT5 fosforilado mediante FACS en diferentes tipos celulares tras la estimulación durante 20 min con inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basados en 4G8 dirigidos a FAP en solución, en comparación con las construcciones qm-Fab Fab-IL-2-Fab y Fab-IL-2 basada en 28H1 así como Proleuquina. A) células NK (CD3-CD56+); B) células T CD8+ 20 (CD3+CD8+); C) células T CD4+ (CD3+CD4+CD25-CD127+); D) células T reguladoras (CD4+CD25+FOXP3+).

FIGURA 13. Unión de 2B10 IgG-IL-2 dirigido contra TNC A2 y la correspondiente IgG no conjugada dirigido contra células U87MG que expresan TNC A2, medido por FACS.

25 FIGURA 14. Inducción de la proliferación de células NK92 mediante inmunoconjugados 2B10 IgG-IL-2 qm dirigido contra TNC A2, CH1A1A 98/99

2F1 IgG-IL-2 qm dirigido contra CEA y CH1A1A 98/99 2F1 IgG-IL-2 wt.

FIGURA 15. Inducción de la proliferación de células NK92 mediante inmunoconjugados 4B9 IgG-IL-2 qm dirigido contra FAP y 4B9 IgG-IL-2 wt.

FIGURA 16. Eliminación (medida por liberación de LDH) de células
5 tumorales A549 que sobreexpresan CEA mediante PBMCs a través CCDA
mediada por inmunoconjugados glucomodificados (ge) y salvajes (wt) CH1A1A
IgG-IL-2 qm, en comparación con IgG CH1A1A no conjugados glucomodificados.

FIGURA 17. Purificación de inmunoconjugado IgG-IL-2 wt no dirigido a
DP47GS. A) Perfil de elución del paso de cromatografía de afinidad de la
10 Proteína A. B) Perfil de elución del paso cromatografía de exclusión por tamaño.
C) Análisis por SDS-PAGE (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen,
tampón de reacción MOPS) del producto final. D) Análisis por cromatografía de
exclusión por tamaño del producto final sobre una columna Superdex 200
(contenido del monómero del 99,6%).

15 FIGURA 18. Purificación de inmunoconjugado IgG-IL-2 wt basado en
28H1 dirigido a FAP 28H1. A) Perfil de elución del paso de cromatografía de
afinidad de la Proteína A. B) Perfil de elución del paso cromatografía de
exclusión por tamaño. C) Análisis por SDS-PAGE (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini
Gel, Invitrogen, tampón de reacción MOPS) del producto final. D) Análisis por
20 cromatografía de exclusión por tamaño del producto final sobre una columna
Superdex 200 (contenido del monómero del 99,6%).

FIGURA 19. Purificación de inmunoconjugado IgG-IL-2 wt basado en
CH1A1A 98/99 2B10 dirigido contra CEA. A) Perfil de elución del paso de
cromatografía de afinidad de la Proteína A. B) Perfil de elución del paso de
25 cromatografía de exclusión por tamaño. C) Análisis de la electroforesis SDS
capilar (Caliper) del producto final. D) Análisis de la cromatografía de exclusión

por tamaño del producto final sobre una columna TSKgel G3000 SW XL (contenido de monómero del 100%).

FIGURA 20. Purificación de inmunoconjugado IgG-IL-2 wt basado en 4B9 dirigido contra FAP. A) Perfil de elución del paso de cromatografía de afinidad de la Proteína A. B) Ampliación del perfil de elución del paso de cromatografía de exclusión por tamaño de A. C) Análisis por SDS-PAGE (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, tampón de reacción MOPS) del producto final. D) Análisis por cromatografía de exclusión por tamaño del producto final sobre una columna TSKgel G3000 SW XL (contenido de monómero del 98,5%).

FIGURA 21. A) Análisis por SDS-PAGE (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel (Invitrogen), NuPAGE LDS tampón de muestra (4x), calentado durante 10 min a 70°C, tampón MOPS, 160 V, 60 min, marcador de PM Mark 12, estándar sin teñir (Invitrogen, M) de 2B10 IgG-IL-10M1 reducido (1) y no reducido (2). B) determinación de la afinidad basada en SPR (ProteOn XPR36) de IgG-IL-10M1 2B10 hacia TNC A2 humano ajustado globalmente a un modelo de interacción 1:1.

(chip: NLC; ligando: TNCA2 (250 RU); analito: IgG-IL-10M1 TNCA2 2B10 164 kDa; rango de concentración de analito: 50, 10, 2, 0,4, 0,08, 0 nM; tiempo de asociación: 180s; tiempo de disociación: 600s; tasa de flujo: 50 μ l/min; k_{on} : $1,80 \times 10^6$ 1/Ms; k_{off} : $9,35 \times 10^{-5}$ 1/s; KD: 52 pM). C) determinación de la afinidad basada en SPR (ProteOn XPR36) de IgG-IL-10M1 2B10 hacia IL-10R1 humano ajustado globalmente a un modelo de interacción 1:1 (chip: NLC; ligando: IL-10R1 (1600RU); analito: IgG-IL-10M1 TNCA2 2B10 164 kDa; rango de concentración de analito: 50, 10, 2, 0,4, 0,08, 0 nM; tiempo de asociación: 180s; tiempo de disociación: 600s; tasa de flujo: 50 μ l/min; k_{on} : $5,56 \times 10^5$ 1/Ms; k_{off} : $2,89 \times 10^{-4}$ 1/s; KD: 520 pM).

FIGURA 22. A) Análisis por SDS-PAGE (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel (Invitrogen), NuPAGE LDS tampón de muestra (4x), calentado durante 10 min a 70°C, tampón MOPS, 160 V, 60 min, marcador de PM Mark 12, estándar sin teñir (Invitrogen, M) de IgG-IL-10M1 4G8 reducida (1) y no reducida (2). B) 5 determinación de afinidad basada en SPR (ProteOn XPR36) de IgG-IL-10M1 4G8 hacia FAP humano ajustado globalmente a un modelo de interacción 1:1 (chip: GLM; ligando: huFAP (500RU); analito: FAP IgG-IL-10M1 4G8 164 kDa; rango de concentración de analito: 10, 2, 0,4, 0,08, 0 nM; tiempo de asociación: 180s; tiempo de disociación: 600s; tasa de flujo: 50 µl/min; k_{on} : $6,68 \times 10^5$ 1/Ms; 10 k_{off} : $1,75 \times 10^{-5}$ 1/s; KD: 26 pM). C) determinación de afinidad basada en SPR (ProteOn XPR36) de IgG-IL-10M1 4G8 hacia IL-10R1 humano ajustado globalmente a un modelo de interacción 1:1 (chip: NLC; ligando: IL 10R1 (1600RU); analito: IgG-IL-10M1 FAP 4G8 164 kDa; rango de concentración de analito: 50, 10, 2, 0,4, 0,08, 0 nM; tiempo de asociación: 180s; tiempo de 15 disociación: 600s; tasa de flujo: 50 µl/min; k_{on} : $3,64 \times 10^5$ 1/Ms; k_{off} : $2,96 \times 10^{-4}$ 1/s; KD: 815 pM).

FIGURA 23. Purificación de inmunoconjugado “1+1” IgG-IL-2 qm basado en 4B9 dirigido contra FAP. A) Perfil de elución combinado de la cromatografía de afinidad y de la cromatografía de exclusión por tamaño. B) Análisis por SDS- 20 PAGE (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, tampón de reacción MOPS) del producto final. C) Análisis por cromatografía de exclusión por tamaño del producto final sobre una columna TSKgel G3000 SW XL (contenido de monómero del 99,2%).

FIGURA 24. Purificación de inmunoconjugado “1+1” IgG-IL-2 qm basado 25 en 28H1 dirigido contra FAP. A) Perfil de elución combinado de la cromatografía de afinidad y de la cromatografía de exclusión por tamaño. B) Análisis por SDS-PAGE (NuPAGE Novex Bis-Tris Mini Gel, Invitrogen, tampón de reacción MOPS)

del producto final. C) Análisis por cromatografía de exclusión por tamaño del producto final sobre una columna TSKgel G3000 SW XL (contenido de monómero del 100%).

FIGURA 25. Purificación de inmunoconjugado “1+1” IgG-IL-7 qm basado en 4B9 dirigido contra FAP. A) Perfil de elución combinado de la cromatografía de afinidad y de la cromatografía de exclusión por tamaño. B) Análisis por electroforesis SDS capilar (Caliper) del producto final. C) Análisis por cromatografía de exclusión por tamaño del producto final sobre una columna TSKgel G3000 SW XL (contenido de monómero del 98,6%).

FIGURA 26. Purificación de inmunoconjugado “1+1” IgG- IFN- α basado en 4B9 dirigido contra FAP. A) Perfil de elución de la cromatografía de afinidad de la proteína A. B) Perfil de elución de la cromatografía de exclusión por tamaño. C) Análisis por electroforesis SDS capilar (Caliper) del producto final. D) Análisis por cromatografía de exclusión por tamaño del producto final sobre una columna TSKgel G3000 SW XL (contenido de monómero del 92,8%).

FIGURA 27. Inducción de la proliferación de células NK92 mediante inmunoconjugados 4B9 “1+1” IgG-IL-2 qm dirigido contra FAP y 28H1 “1+1” IgG-IL-2 wt, en comparación con las correspondientes construcciones IgG-IL-2.

FIGURA 28. Proliferación de células activadas por PHA (A) CD4 y (B) células T CD8 inducidas por inmunoconjugados 4B9 “1+1” IgG-IL-7 y 4B9 “1+1” IgG-IL-2 qm, en comparación con las correspondientes construcciones IgG-IL-2 qm y IgG-IL-2 wt.

FIGURA 29. Inducción de la proliferación de células Daudi mediante inmunoconjugados 4B9 “1+1” IgG-IFN- α , en comparación con Roferon A.

FIGURE 30. Concentraciones en suero de inmunoconjugados IL-2 tras

una única administración i.v. de construcciones IgG-IL-2 dirigidas contra FAP (A) y no dirigidas (B) que comprenden IL-2 de tipo salvaje (wt) o cuádruple mutante (qm).

FIGURA 31. Distribución en tejido de 28H1 IgG-IL qm dirigida contra FAP en comparación con IgG 28H1 no conjugada dirigida contra FAP e IgG 4B9, así como IgG DP47GS no dirigida, 24 horas tras la inyección i.v.

FIGURA 32. Unión de inmunoconjugados 28H1 IgG-IL-2 qm y 28H1 IgG-(IL-2 qm)₂ a células NK92 tal como se determina mediante FACS.

FIGURA 33. Proliferación de células NK tras la incubación con diferentes inmunoconjugados 28H1 IL-2 dirigidos contra FAP o Proleuquina durante 4 (A), 5 (B) o 6 (C) días.

FIGURA 34. Proliferación de células T CD4 tras la incubación con diferentes inmunoconjugados 28H1 IL-2 dirigidos contra FAP o Proleuquina durante 4 (A), 5 (B) o 6 (C) días.

FIGURA 35. Proliferación de células T CD8 tras la incubación con diferentes inmunoconjugados 28H1 IL-2 dirigidos contra FAP o Proleuquina durante 4 (A), 5 (B) o 6 (C) días.

FIGURA 36. Proliferación de células CD8 preactivadas (A) y CD4 (B) células T tras seis días de incubación con diferentes inmunoconjugados de IL-2.

FIGURA 37. Muerte celular inducida por activación de células T CD3⁺ tras seis días de incubación con diferentes inmunoconjugados de IL-2 y tratamiento durante la noche con anticuerpo anti-Fas.

FIGURA 38. Las concentraciones séricas de inmunoconjugados de IL-2 después de una sola administración iv de construcciones DP47GS IgG-IL-2 no

dirigidas que comprende IL-2 tipo salvaje (A) o cuádruple mutante de IL-2 (B).

FIGURA 39. Unión de DP47GS IgG a diferentes antígenos. La unión se detectó en un ensayo basado en ELISA con los antígenos capturados en la placa. Un anticuerpo humano IgG1 que presenta unión no específica a casi todos los antígenos capturados se utilizó como control positivo, las muestras de blanco no contienen ningún anticuerpo.

FIGURA 40. La unión de IgG DP47GS con o sin mutación LALA P329G en el dominio Fc de subgrupos de CMSP humanas frescas (A), activadas con PHA-L (B) y re-estimuladas (C), como se determina mediante análisis de FACS.

10 Panel superior izquierdo: células B (en A, B) o células T CD4⁺ (en C), panel superior derecho: linfocitos T CD8⁺, panel inferior izquierdo: células NK; panel inferior derecho: células CD14⁺ (monocitos / neutrófilos).

Descripción detallada de la invención

Definiciones

15 Los términos se utilizan aquí tal como se utilizan en general en la materia, a no ser que se indique de otra manera a continuación.

Tal como se utiliza aquí, el término "conjugado" se refiere a una molécula de polipéptido de fusión que incluye una porción efectora y una molécula de péptido adicional, en particular una molécula de inmunoglobulina.

20 Tal como se utiliza aquí, el término "inmunoconjugado" se refiere a una molécula de polipéptido de fusión que incluye una porción efectora, al menos una porción de unión a antígeno y un dominio Fc, siempre que no esté presente más de una porción efectora. En ciertas realizaciones, el inmunoconjugado comprende una porción efectora, dos porciones de unión a antígeno, y un

dominio Fc. Los inmunoconjugados particulares de acuerdo con la invención consisten esencialmente de una porción efectora, dos porciones de unión a antígeno, y un dominio Fc, unido por una o más secuencias enlazantes. La porción de unión a antígeno y la porción efectora pueden unirse al dominio Fc mediante una serie de interacciones y en una serie de configuraciones tal como se ha descrito aquí. En una realización particular, las dos porciones de unión a antígeno y el dominio Fc está unidas entre ellas en una configuración de tal manera que forman una molécula de inmunoglobulina completa. Un inmunoconjugado tal como se refiere aquí, es una proteína de fusión, es decir, los componentes del inmunoconjugado están unidos entre ellos mediante enlaces peptídicos, de forma directa o a través de enlazantes de péptido.

Tal como se utiliza aquí, el término "porción de unión a antígeno" se refiere a una molécula de polipéptido que se une específicamente a un determinante antigénico. En una realización, una porción de unión a antígeno es capaz de dirigir la entidad a la que está unido (por ejemplo, una porción efectora o una segunda porción de unión a antígeno) a un lugar diana, por ejemplo a un tipo específico de célula tumoral o estroma tumoral portador del determinante antigénico. Porciones de unión a antígeno incluye anticuerpos y fragmentos de los mismos tal como se ha definido aquí. Las porciones de unión a antígeno particulares incluyen un dominio de unión a antígeno de un anticuerpo, que comprenden una región variable de cadena pesada de un anticuerpo y una región variable de anticuerpo de cadena ligera de un anticuerpo. En ciertas realizaciones, las porciones de unión a antígeno pueden comprender regiones constantes de un anticuerpo tal como se ha definido aquí y se conoce en la materia. Regiones constantes útiles de cadena pesada incluye cualquiera de los cinco isotipos: α , δ , ϵ , γ , o μ . Regiones constantes útiles de cadena ligera incluye cualquiera de los dos isotipos: κ y λ .

Tal como se utiliza aquí, el término "determinante antigénico" es sinónimo de "antígeno" y "epítipo" y se refiere a un lugar (por ejemplo, un tramo contiguo de aminoácidos o una configuración conformacional construida por diferentes regiones de aminoácidos no contiguas) sobre una macromolécula de polipéptido

5 a la que se une una porción de unión a antígeno, que forma una porción de unión a complejo antígeno-antígeno. Determinantes antigénicos útiles pueden encontrarse, por ejemplo, en las superficies de células tumorales, en las superficies de células infectadas por virus, en las superficies de otras células enfermas, libres en el suero sanguíneo, y/o en la matriz extracelular (ECM). En

10 una realización particular el determinante antigénico es un antígeno humano.

Por "se une específicamente" se entiende que la unión es selectiva para el antígeno y puede discriminarse de interacciones no deseadas o inespecíficas. La capacidad de una porción de unión a antígeno de unirse a un determinante antigénico específico puede medirse a través de un ensayo inmunosorbente

15 ligado a enzimas (ELISA) o mediante otras técnicas familiares a un experto en la materia, por ejemplo, técnica de resonancia de plasmón de superficie (SPR) (analizado sobre un instrumento BIAcore) (Liljeblad et al., Glyco J 17, 323-329 (2000)), y ensayos de unión tradicionales (Heeley, Endocr Res 28, 217-229 (2002)). En una realización, la extensión de la unión de una porción de unión a

20 antígeno hacia una proteína no relacionada es inferior a alrededor de un 10% de la unión de la porción de unión a antígeno al antígeno tal como se mide, por ejemplo, mediante SPR. En ciertas realizaciones, una porción de unión a antígeno que se une al antígeno, o un inmunoconjugado que comprende la porción de unión a antígeno, posee una constante de disociación (KD) de ≤ 1

25 μM , ≤ 100 nM, ≤ 10 nM, ≤ 1 nM, $\leq 0,1$ nM, $\leq 0,01$ nM, o $\leq 0,001$ nM (por ejemplo, 10^{-8} M o inferior, por ejemplo, desde 10^{-8} M hasta 10^{-13} M, por ejemplo, desde 10^{-9} M hasta 10^{-13} M).

“Afinidad” se refiere a la fuerza de la suma total de interacciones no covalentes entre un sitio de unión único de una molécula (por ejemplo, un receptor) y su pareja de unión (por ejemplo, un ligando). A menos que se indique lo contrario, tal como se utiliza aquí, “afinidad de unión” se refiere a la afinidad de unión intrínseca que refleja una interacción 1:1 entre los miembros de una pareja de unión (por ejemplo, un receptor y un ligando). La afinidad de una molécula X para su pareja Y puede representar generalmente mediante la constante de disociación (K_D), que es la proporción de las tasas de las constantes de disociación y asociación (k_{off} y k_{on} , respectivamente). Así, las afinidades equivalentes pueden comprender diferentes constantes de tasas, siempre que la proporción de las constantes de tasas permanecen igual. La afinidad puede medirse por métodos bien establecidos conocidos en la materia, lo que incluye aquellos descritos aquí. Un método particular para medir la afinidad es la resonancia de plasmón en superficie (SPR).

“Unión reducida”, por ejemplo la unión reducida a un receptor de Fc o a CD25, se refiere a una disminución en la afinidad para la correspondiente interacción, tal como se mide por ejemplo mediante SPR. Para clarificar el término incluye también la reducción de la afinidad a cero (o por debajo del límite de detección del método de análisis), es decir, la abolición completa de la interacción. Por contra, “unión aumentada” se refiere a un aumento en la afinidad de unión para la correspondiente interacción.

Tal como se utiliza aquí, los términos “primero” y “segundo” con respecto a porciones de unión a antígeno etc., se utilizan para conveniencia de distinguir cuando hay más de uno de cada tipo de porción. La utilización de estos términos no pretende conferir un orden u orientación específico del inmunoconjugado a no ser que se especifique de forma explícita.

Tal como se utiliza aquí, el término “porción efectora” se refiere a un

polipéptido, por ejemplo, una proteína o glucoproteína, que influye la actividad celular, por ejemplo, a través de la transducción de señales u otras rutas celulares. De este modo, la porción efectora de la invención puede asociarse con la señalización mediada por receptor que transmite una señal desde fuera

5 de la membrana celular para modular una respuesta en una célula portadora de uno o más receptores para la porción efectora. En una realización, una porción efectora puede provocar una respuesta citotóxica en células portadoras de uno o más receptores para la porción efectora. En otra realización, una porción efectora puede provocar una respuesta proliferativa en células portadoras de

10 uno o más receptores para la porción efectora. En otra realización, una porción efectora puede provocar la diferenciación en células portadoras de receptores para la porción efectora. En otra realización, una porción efectora puede alterar la expresión (es decir, regular de forma positiva o negativa) de una proteína celular endógena en células portadoras de receptores para la porción efectora.

15 Ejemplos no limitantes de porciones efectoras incluye citoquinas, factores de crecimiento, hormonas, enzimas, sustratos, y cofactores. La porción efectora puede asociarse con una porción de unión a antígeno o un dominio Fc en una serie de configuraciones para formar un inmunoconjugado.

Tal como se utiliza aquí, el término "citoquina" se refiere a una molécula

20 que media y/o regula una función o proceso biológico o celular (por ejemplo, inmunidad, inflamación, y hematopoyesis). El término "citoquina" tal como se utiliza aquí incluye "linfocinas," "quimiocinas," "monocinas" y "interleucinas". Ejemplos de citoquinas útiles incluye, pero no se limita a, GM-CSF, IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IFN- α , IFN- β , IFN- γ , MIP-1 α ,

25 MIP-1 β , TGF- β , TNF- α , y TNF- β . Citoquinas particulares son IL-2, IL-7, IL-10, IL-12, IL-15, IFN- α y IFN- γ . En realizaciones particulares la citoquina es una citoquina humana. El término "citoquina" tal como se utiliza aquí pretende también incluir variantes de citoquinas que comprenden una o más mutaciones

de aminoácido en las secuencias de aminoácidos de las correspondientes citoquinas de tipo salvaje, como por ejemplo las variantes de IL-2 descritas en Sauv   et al., Proc Natl Acad Sci USA 88, 4636-40 (1991); Hu et al., Blood 101, 4853-4861 (2003) y Publ. de Pat. Estadounidense N   2003/0124678; Shanafelt
 5 et al., Nature Biotechnol 18, 1197-1202 (2000); Heaton et al., Cancer Res 53, 2597-602 (1993) y Pat. Estadounidense N   5.229.109; Publ. de Pat. Estadounidense N   2007/0036752; WO 2008/0034473; WO 2009/061853; o Solicitud de patente PCT n   PCT/PE2012/051991. Otras variantes de citoquina, por ejemplo variantes de IL-15, se describen aquí. En ciertas realizaciones las
 10 citoquinas se han mutado para eliminar la glucosilación.

Tal como se utiliza aquí, el término "cadena sencilla" se refiere a una molécula que comprende monómeros de aminoácido unidos de forma lineal mediante enlaces peptídicos. En una realización, la porción efectora es una porción efectora de cadena sencilla. Ejemplos no limitantes de porciones
 15 efectoras de cadena sencilla incluye citoquinas, factores de crecimiento, hormonas, enzimas, sustratos, y cofactores. Cuando la porción efectora es una citoquina y la citoquina de interés se encuentra normalmente como un multímero en su naturaleza, cada subunidad de la citoquina multimérica está codificada secuencialmente por la cadena sencilla de la porción efectora. De este modo,
 20 ejemplos no limitantes de porciones efectoras útiles de cadena sencilla incluye GM-CSF, IL-1  , IL-1  , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IFN-  , IFN-  , IFN-  , MIP-1  , MIP-1  , TGF-  , TNF-  , y TNF-  .

Tal como se utiliza aquí, el término " porción efectora control" se refiere a una porción efectora no conjugada. Por ejemplo, cuando se compara un
 25 inmunconjugado de IL-2 tal como se ha descrito aquí con una porción efectora control, la porción efectora control es libre, IL-2 no conjugada. De forma similar, por ejemplo, cuando se compara un inmunconjugado de IL-12 con una porción

efectora control, la porción efectora control es libre, IL-12 no conjugada (por ejemplo, que existe como una proteína heterodimérica en la que las subunidades p40 y p35 comparten solo los puentes disulfuro.

Tal como se utiliza aquí, el término "receptor de porción efectora" se refiere a una molécula de polipéptido capaz de unirse específicamente a una porción efectora. Por ejemplo, cuando IL-2 es la porción efectora, el receptor de la porción efectora que se une a una molécula de IL-2 (por ejemplo, un inmunoconjugado que comprende IL-2) es el receptor IL-2. De forma similar, por ejemplo, cuando IL-12 es la porción efectora de un inmunoconjugado, el receptor de la porción efectora es el receptor IL-12. Cuando una porción efectora se une específicamente a más de un receptor, todos los receptores que se unen específicamente a la porción efectora son "receptores de la porción efectora" para esa porción efectora.

El término "molécula de inmunoglobulina" se refiere a una proteína que posee la estructura de un anticuerpo natural. Por ejemplo, inmunoglobulinas de la clase IgG son glucoproteínas heterotetraméricas de alrededor de 150.000 dalton, compuestas por dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas que están unidas por puentes disulfuro. Desde el extremo N al C terminal, cada cadena pesada posee una región variable (VH), también denominada un dominio pesado variable o un dominio variable de cadena pesada, seguido por tres dominios pesados constantes (CH1, CH2, y CH3), también denominados región constante de cadena pesada. De forma similar, desde el extremo N al C terminal, cada cadena ligera posee una región variable (VL), también denominada un dominio ligero variable o un dominio variable de cadena ligera, seguido por un dominio ligero constante (CL), también denominado región constante de cadena ligera. La cadena pesada de una inmunoglobulina puede asignarse a uno de los cinco tipos, denominados α (IgA), δ (IgD), ϵ (IgE), y γ (IgG),

o μ (IgM), algunos de los cuales pueden dividirse además en subtipos, por ejemplo, γ_1 (IgG₁), γ_2 (IgG₂), γ_3 (IgG₃), γ_4 (IgG₄), α_1 (IgA₁) y α_2 (IgA₂). La cadena ligera de una inmunoglobulina puede asignarse a uno de dos tipos, denominados kappa (κ) y lambda (λ), basados en la secuencia de aminoácidos de su dominio constante. Una inmunoglobulina consiste esencialmente de dos moléculas Fab y un dominio Fc, unidos mediante la región bisagra de inmunoglobulina.

El término "anticuerpo" se utiliza aquí en el sentido más amplio y abarca varias estructuras de anticuerpo, lo que incluye pero no se limita a anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, y fragmentos de anticuerpos siempre que presenten la actividad de unión a antígeno deseada.

Un "fragmento de anticuerpo" se refiere a una molécula diferente al anticuerpo intacto que comprende una porción de un anticuerpo intacto que se une al antígeno al que se une el anticuerpo intacto. Ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluye pero no se limita a Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, diacuerpos, anticuerpos lineales, moléculas de anticuerpo de cadena sencilla (por ejemplo, scFv), y anticuerpos de dominio único. Para una revisión de ciertos fragmentos de anticuerpos, véase Hudson et al., Nat Med 9, 129-134 (2003). Para una revisión de fragmentos scFv, véase por ejemplo, Plückthun, en The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg y Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994); véase también WO 93/16185; y Patente Estadounidense N° 5.571.894 y 5.587.458. Para la discusión de fragmentos Fab y F(ab')₂ que comprenden residuos de epítopos que se unen al receptor salvaje y con una vida media aumentada in vivo, véase la Patente Estadounidense N° 5.869.046. Los diacuerpos son fragmentos de anticuerpos con dos sitios de unión a antígeno que pueden ser bivalentes o biespecíficos. Véase, por ejemplo, PE 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). Los triacuerpos y tetracuerpos también se describen en Hudson et al., Nat Med 9, 129-134 (2003). Los anticuerpos de dominio único son fragmentos de anticuerpos que comprenden todo o una porción del dominio variable de cadena pesada o todo o una porción del dominio variable de la cadena ligera de un anticuerpo. En ciertas realizaciones, un anticuerpo de dominio único es un anticuerpo humano de dominio único (Domantis, Inc., Waltham, MA; véase por ejemplo, Patente Estadounidense N° 6.248.516 B1). Los fragmentos de anticuerpos pueden obtenerse mediante varias técnicas, lo que incluye pero no se limita a digestión proteolítica de un anticuerpo intacto así como la producción mediante células huésped recombinantes (por ejemplo, E. coli o fagos), tal como se ha descrito aquí.

El término "dominio de unión a antígeno" se refiere a la parte de un anticuerpo que comprende el área que se le une específicamente y es complementario a una parte o a todo el antígeno. Un dominio de unión a antígeno puede conseguirse mediante, por ejemplo, una o más dominios variables de anticuerpo (también denominados región variable de anticuerpo). Particularmente, un dominio de unión a antígeno comprende una región variable de anticuerpo de cadena ligera de un anticuerpo (VL) y una región variable de cadena pesada de un anticuerpo (VH).

El término "región variable" o "dominio variable" se refiere al dominio de una cadena ligera o pesada de anticuerpo que está involucrada en la unión de un anticuerpo a un antígeno. Los dominios variables de la cadena pesada y cadena ligera (VH y VL, respectivamente) de un anticuerpo nativo generalmente poseen estructuras similares, con cada dominio que comprende cuatro regiones marco conservadas (FR) y tres regiones hipervariables (HVR). Véase, por ejemplo, Kindt et al., Kuby Immunology, 6ª ed., W.H. Freeman y Co., página 91

(2007). Un dominio único de VH o VL puede ser suficiente para conferir una especificidad de unión a antígeno.

El término “región hipervariable” o “HVR”, tal como se utiliza aquí, se refiere a cada una de las regiones de un dominio variable de anticuerpo que es hipervariable en la secuencia y/o forma lazos definidos estructuralmente (“laços hipervariables”). En general, los anticuerpos nativos de cuatro cadenas comprenden seis HVR; tres en el VH (H1, H2, H3), y tres en el VL (L1, L2, L3). HVR generalmente comprende residuos de aminoácido a partir de lazos hipervariables y/o a partir de las regiones determinantes de complementariedad (CDR), siendo esta última la variabilidad de secuencia más alta y/o involucrada en el reconocimiento de antígenos. Con la excepción de CDR1 en VH, los CDR generalmente comprenden los residuos de aminoácido que forman los lazos hipervariables. Las regiones hipervariables (HVR) también se denominan “regiones determinantes de complementariedad” (CDR), y estos términos se utilizan aquí indistintamente en referencia a las porciones de la región variable que forman las regiones de unión a antígeno. Esta región particular se ha descrito por Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, Sequences of Proteins of Immunological Interest (1983) y por Chothia et al., J Mol Biol 196:901-917 (1987), en las que las definiciones incluyen solapamiento o subgrupos de residuos de aminoácido cuando se comparan entre ellos. Sin embargo, la aplicación de cualquiera de las definiciones para referirse a un CDR de un anticuerpo o variantes de los mismos pretende estar dentro del alcance del término tal como se ha definido y utilizado en este documento. Los residuos de aminoácido apropiados que abarcan los CDR tal como se ha definido por cada una de las referencias citadas anteriormente se describen más adelante en la Tabla 1 como comparativa. Los números exactos de residuos que abarcan un CDR particular variará dependiendo de la secuencia y tamaño del CDR. Los expertos en la materia pueden determinar de forma rutinaria qué residuos

comprenden un CDR particular dada la secuencia de aminoácidos de la región variable del anticuerpo.

TABLA 1. CDR Definiciones¹

CDR	Kabat	Chothia	AbM²
V _H CDR1	31-35	26-32	26-35
V _H CDR2	50-65	52-58	50-58
V _H CDR3	95-102	95-102	95-102
V _L CDR1	24-34	26-32	24-34
V _L CDR2	50-56	50-52	50-56
V _L CDR3	89-97	91-96	89-97

¹ Numeración de todas las definiciones de CDR en la Tabla 1 está de acuerdo con las convenciones de numeración descritas por Kabat et al. (véase más adelante).

² "AbM" con una "b" minúscula, tal como se utiliza en la Tabla 1 se refiere a los CDR definidos por el "AbM" del programa de modelaje de anticuerpo de Oxford Molecular.

Kabat et al. también definieron un sistema de numeración para secuencias de región variable que es aplicable a cualquier anticuerpo. Un experto en la materia puede asignar sin riesgo a equivocarse este sistema de "numeración Kabat" a cualquier secuencia de la región variable, sin depender de ningún dato experimental más allá de la secuencia en sí. Tal como se utiliza aquí, "numeración Kabat" se refiere al sistema de numeración descrito por Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequence of Proteins of Immunological Interest" (1983). A no ser que se especifique de otra manera, las referencias a la numeración de posiciones de residuo de aminoácidos

específicas en una región variable de anticuerpo están de acuerdo con el sistema de numeración Kabat.

Las secuencias de polipéptido del listado de secuencias (es decir, Id. de Sec. N° 23, 25, 27, 29, 31, etc.) no están numeradas de acuerdo con el sistema de numeración Kabat. No obstante, es bien conocido para un experto en la materia convertir la numeración de las secuencias del listado de secuencias a la numeración Kabat.

"Marco" o "FR" se refiere a residuos del dominio variable diferentes a los residuos de la región hipervariable (HVR). El FR de un dominio variable generalmente consiste de cuatro FR dominios: FR1, FR2, FR3, y FR4. De este modo, las secuencias HVR y FR generalmente aparecen en la siguiente secuencia en VH (o VL): FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

La "clase" de un anticuerpo o inmunoglobulina se refiere al tipo de dominio constante o región constante poseída por su cadena pesada. Existen cinco clases principales de anticuerpos: IgA, IgD, IgE, IgG, y IgM, y varias de estas pueden dividirse además en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁, y IgA₂. Los dominios constantes de cadena pesada que corresponden con las diferentes clases de inmunoglobulinas se denominan α , δ , ϵ , γ , y μ , respectivamente.

El término "dominio Fc" o "región Fc" se utiliza aquí 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 de secuencia Fc nativas y regiones de variantes de Fc. 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 está definida normalmente por extenderse desde Cys226, o desde Pro230, hasta el carboxilo terminal de la cadena pesada.

No obstante, la lisina C-terminal (Lys447) de la región Fc puede estar presente o no. A no ser que se especifique de otra manera en este documento, la numeración de los residuos de aminoácido en la región Fc o en la región constante está de acuerdo con la numeración del sistema EU, también
5 denominado índice EU, tal como se describe en Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991. Una “subunidad” de un dominio Fc tal como se utiliza aquí se refiere a uno de los dos polipéptidos que forman el dominio Fc dimérico, es decir, un polipéptido que comprende las regiones
10 constantes C-terminal de una cadena pesada de inmunoglobulina, con capacidad de establecer una autoasociación estable. Por ejemplo, una subunidad de un dominio Fc de IgG comprende un CH2 de IgG y un dominio constante CH3 de IgG.

Una “modificación que promueve la heterodimerización” es una
15 manipulación de la estructura peptídica 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 tal como se utiliza aquí incluye particularmente modificaciones separadas realizadas a cada uno de los dos polipéptidos que se
20 desea que formen un dímero, en la que las modificaciones son complementarias entre ellas 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 polipéptidos que se desea que formen un dímero para formar una asociación estéricamente o electroestáticamente favorable,
25 respectivamente. La heterodimerización sucede entre dos polipéptidos no idénticos, por lo que las dos subunidades de un dominio Fc las que otros componentes inmunoconjugados fusionados a cada una de las subunidades (por ejemplo, porción de unión a antígeno, porción efectora) no son las mismas.

En los inmunoconjugados de acuerdo con la presente invención, la modificación que promueve la heterodimerización es en el dominio Fc. En algunas realizaciones la modificación que promueve la heterodimerización comprende una mutación de aminoácido, específicamente una sustitución de aminoácido.

- 5 En una realización particular, la modificación que promueve la heterodimerización comprende una mutación de aminoácido separada, específicamente una sustitución de aminoácido, en cada una de las dos subunidades del dominio Fc.

- El término “funciones efectoras” se refiere a aquellas actividades biológicas atribuibles a la región Fc de un anticuerpo, que varía con el isotipo de anticuerpo. Ejemplos de funciones efectoras de anticuerpo incluye: unión a C1q y citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), unión al receptor de Fc, citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (CCDA), fagocitosis celular dependiente de anticuerpo (FCDA), secreción de citoquina, captación de
- 10
- 15 antígeno mediado por complejo inmune mediante células presentadoras de antígeno, regulación negativa de receptores de superficie celular (por ejemplo, receptor de células B), y activación de células B.

- Tal como se utiliza aquí, los términos “modificar, modificado, modificación”, tiene en cuenta incluir cualquier manipulación de la estructura peptídica o las modificaciones postraduccionales de un polipéptido natural o recombinante o fragmento del mismo. La modificación incluye modificaciones de la secuencia de aminoácidos, del patrón de glucosilación, o del grupo de cadena lateral de aminoácidos individuales, así como combinaciones de estas aproximaciones. “Modificación”, en particular con el prefijo “gluco”, así como el
- 20
- 25 término “modificación de la glucosilación” incluye modificaciones metabólicas de la maquinaria de glucosilación de una célula, lo que incluye manipulaciones genéticas de las rutas de síntesis de oligosacáridos para lograr una glucosilación

alterada de las glucoproteínas expresadas en las células. Además, la modificación de la glucosilación incluye los efectos de mutaciones y ambiente celular sobre la glucosilación. En una realización, la modificación de la glucosilación es una alteración en la actividad glucosiltransferasa. En una
5 realización particular, la modificación resulta en la actividad glucosaminiltransferasa alterada y/o actividad fucosiltransferasa. La modificación de la glucosilación puede utilizarse para obtener una “célula huésped con una actividad GnTIII aumentada”, una “célula huésped con una actividad ManII aumentada”, o una “célula huésped con una actividad $\alpha(1,6)$ fucosiltransferasa
10 disminuida”.

El término “mutación de aminoácidos” tal como se utiliza aquí pretende abarcar sustituciones de aminoácidos, deleciones, inserciones, y modificaciones. Cualquier combinación de sustitución, deleción, inserción, y modificación puede realizarse para conseguir la construcción final, siempre que la construcción final
15 posea las características deseadas, por ejemplo, unión a un receptor de Fc reducida, o unión a CD25 reducida. Las deleciones e inserciones en la secuencia de aminoácidos incluye deleciones e inserciones en los aminoácidos amino- y/o carboxi-terminal. Las mutaciones de aminoácido particulares son sustituciones de aminoácido. Con el propósito de alterar por ejemplo, las
20 características de unión de una región Fc o una citoquina como IL-2, sustituciones de aminoácido no conservadoras, es decir, sustituir un aminoácido con otro aminoácido con diferentes propiedades estructurales y/o químicas, son particularmente preferibles. Las sustituciones de aminoácidos incluye sustitución por aminoácidos no naturales o por derivados de aminoácidos naturales de los
25 veinte aminoácidos estándar (por ejemplo, 4-hidroxiprolina, 3-metilhistidina, ornitina, homoserina, 5-hidroxilisina). Las mutaciones de aminoácidos pueden generarse utilizando métodos genéticos o químicos bien conocidos en la materia. Los métodos genéticos pueden incluir mutagénesis dirigida al sitio, PCR,

síntesis génica y similares. Se contempla que pueden también ser útiles los métodos para alterar el grupo de cadena lateral de un aminoácido mediante métodos diferentes a los de la modificación genética, como la modificación química. Varias designaciones pueden utilizarse aquí para indicar la misma
5 mutación de aminoácidos. Por ejemplo, una substitución a partir de prolina en la posición 329 del dominio Fc en glicina puede indicarse como 329G, G329, G329, P329G, o Pro329Gli.

Tal como se utiliza aquí, el término "polipéptido" se refiere a una molécula compuesta de monómeros (aminoácidos) unidos de forma lineal por enlaces
10 amida (también conocidos como enlaces peptídicos). El término "polipéptido" se refiere a cualquier cadena de dos o más aminoácidos, y no se refiere a una longitud específica del producto. Así, los péptidos, dipéptidos, tripéptidos, oligopéptidos, "proteína" "cadena de aminoácido" o cualquier otro término utilizado para referirse a una cadena de dos o más aminoácidos, se incluyen
15 dentro de la definición de "polipéptido," y el término "polipéptido" puede utilizarse en lugar de, o de forma intercambiable con cualquiera de estos términos. El término "polipéptido" también pretende referirse a los productos de modificaciones postexpresión del polipéptido, que incluye sin limitación la glucosilación, acetilación, fosforilación, amidación, derivación mediante grupos
20 protectores/bloqueantes conocidos, escisión proteolítica, o modificación mediante aminoácidos no naturales. Un polipéptido puede derivar de una fuente biológica natural o producirse mediante tecnología recombinante, pero no se traduce necesariamente a partir de una secuencia designada de un ácido nucleico. Puede generarse de cualquier forma, incluyendo la síntesis química.

25 Un polipéptido de la invención puede ser de un tamaño de alrededor de 3 o más, 5 o más, 10 o más, 20 o más, 25 o más, 50 o más, 75 o más, 100 o más, 200 o más, 500 o más, 1.000 o más, o 2.000 o más aminoácidos. Los polipéptidos pueden tener una estructura tridimensional definida, aunque no tienen

necesariamente dicha estructura. Los polipéptidos con una estructura tridimensional definida están referidos como plegados, y los polipéptidos que no poseen una estructura tridimensional definida, pero que pueden adoptar un gran número de diferentes conformaciones, y están referidos como no plegados.

- 5 Por un polipéptido o una variante "aislada", o derivado del mismo se entiende un polipéptido que no está en su medio natural. No es necesario un nivel particular de purificación. Por ejemplo, un polipéptido aislado puede eliminarse de su ambiente nativo o natural. Los polipéptidos producidos de forma recombinante y las proteínas expresadas en células huésped se
- 10 consideran aisladas dentro del propósito de la invención, como polipéptidos nativos o recombinantes que se han separado, fraccionado, o parcialmente o sustancialmente purificados por cualquier técnica adecuada.

- "Porcentaje de identidad (%)" de secuencia de aminoácidos" con respecto a una secuencia de referencia de polipéptido se define como el porcentaje de
- 15 residuos de aminoácido en una secuencia candidata que es idéntica con los residuos de aminoácido en la secuencia del polipéptido de referencia, tras alinear las secuencias e introducir los huecos, si es necesario, para lograr el máximo porcentaje de identidad de secuencia, y no se considera cualquier sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencia. El
- 20 alineamiento con el propósito de determinar el porcentaje de identidad de la secuencia de aminoácidos puede lograrse de varias maneras conocidas por el experto en la materia, por ejemplo, utilizando programas de ordenador disponibles públicamente como los programas BLAST, BLAST-2, ALIGN o Megalign (DNASTAR). Los expertos en la materia pueden determinar los
- 25 parámetros apropiados para alinear las secuencias, lo que incluye cualquier algoritmo necesario para lograr el máximo alineamiento sobre la longitud completa de las secuencias a comparar. Para el propósito del presente

documento, no obstante, el valor del % de identidad en la secuencia de aminoácidos se genera utilizando el programa de ordenador de comparación de secuencias ALIGN-2. El programa de ordenador de comparación de secuencias ALIGN-2 es propiedad de Genentech, Inc., y el código fuente se depositó con la documentación de usuario en la oficina de derechos de autos Estadounidense, Washington D.C., 20559, en la que se registró bajo el N° de registro de derechos de autos Estadounidense TXU510087. El programa ALIGN-2 está disponible públicamente por Genentech, Inc., San Francisco Sur, California, o puede compilarse a partir del código fuente. El programa ALIGN-2 puede compilarse para ser utilizado en un sistema operativo UNIX, que incluye digital UNIX V4.0D. Todos los parámetros de comparación de secuencias se ajustan por el programa ALIGN-2 y no varían. En situaciones en las que se emplea ALIGN-2 para las comparaciones de secuencias de aminoácidos, el % de identidad de la secuencia de aminoácidos de una secuencia de aminoácidos determinada A, con, o frente una secuencia de aminoácidos determinada B (que puede expresarse de forma alternativa como una secuencia dada de aminoácidos A que posee o comprende cierto % de identidad de secuencia de aminoácidos, con, o frente una secuencia de aminoácidos determinada B) se calcula como sigue:

100 veces la fracción X/Y

en la que X es el número de residuos de aminoácido puntuados como coincidencias idénticas por el programa de alineamiento de secuencias ALIGN-2 en este alineamiento del programa de A y B, y en el que Y es el número total de residuos de aminoácido en B. Se podrá apreciar que cuando la longitud de secuencia de aminoácidos A no es igual a la longitud de secuencia de aminoácidos B, el % de identidad de secuencia de aminoácidos de A respecto a B no será igual al % de identidad de secuencia de los aminoácidos de B

respecto a A. A menos que se especifique de otra manera, todos los valores de los % de identidad de secuencia de aminoácidos utilizados aquí se obtienen tal como se ha descrito en el párrafo inmediatamente anterior utilizando el programa de ordenador ALIGN-2.

- 5 El término "polinucleótido" se refiere a una molécula o construcción de ácido nucleico aislada, por ejemplo, RNA mensajero (mRNA), RNA derivado de virus, o DNA plasmídico (pDNA). Un polinucleótido puede comprender un enlace fosfodiéster convencional o un enlace no convencional (por ejemplo, un enlace amida, como el que se encuentra en los péptidos de ácidos nucleicos (PNA). El
- 10 término "molécula de ácido nucleico" se refiere a cualquiera de uno o más segmentos de ácido nucleico, por ejemplo, fragmentos de DNA o RNA, presentes en un polinucleótido.

- Por molécula de ácido nucleico o polinucleótido "aislado" se entiende una molécula de ácido nucleico, DNA o RNA, que se ha retirado de su ambiente
- 15 nativo. Por ejemplo, un polinucleótido recombinante que codifica un polipéptido terapéutico contenido en un vector se considera aislado con el propósito de la presente invención. Otros ejemplos de un polinucleótido aislado incluye polinucleótidos recombinantes mantenidos en células huésped heterólogas o polinucleótidos purificados (parcialmente o sustancialmente) en solución. Un
- 20 polinucleótido aislado incluye una molécula de polinucleótido contenida en células que normalmente contienen la molécula de polinucleótido, pero la molécula de polinucleótido está presente extracromosómicamente o en una localización cromosómica que es diferente de su localización cromosómica natural. Las moléculas de RNA aisladas incluyen transcritos de RNA *in vivo* o *in*
- 25 *vitro* de la presente invención, así como formas de cadenas positivas y negativas, y formas de doble cadena. Los polinucleótidos aislados o los ácidos nucleicos de acuerdo con la presente invención incluyen además dichas

moléculas producidas de forma sintética. Además, un polinucleótido o un ácido nucleico puede estar o puede incluir un elemento regulador como un promotor, sitio de unión ribosoma, o un terminador de la transcripción.

Por ácido nucleico o polinucleótido con una secuencia de nucleótido al menos, por ejemplo, un 95% de "identidad" con una secuencia de nucleótidos de referencia de la presente invención, se pretende que la secuencia de nucleótidos del polinucleótido es idéntica a la secuencia de referencia excepto que la secuencia de polinucleótidos puede incluir hasta cinco mutaciones puntuales por cada 100 nucleótidos de la secuencia de nucleótidos de referencia. En otras palabras, para obtener un polinucleótido con una secuencia de nucleótidos al menos un 95% idéntica a una secuencia de nucleótidos de referencia, hasta el 5% de los nucleótidos en la secuencia de referencia puede eliminarse o sustituirse con otro nucleótido, o una serie de nucleótidos hasta un 5% del total de nucleótidos en la secuencia de referencia puede insertarse en la secuencia de referencia. Estas alteraciones de la secuencia de referencia pueden aparecer en las posiciones 5' o 3' terminal de la secuencia de referencia de nucleótidos o en cualquier sitio entre aquellas posiciones terminales, intercaladas tanto individualmente entre los residuos en la secuencia de referencia o en uno o más grupos contiguos dentro de la secuencia de referencia. Como una cuestión práctica, si alguna secuencia de polinucleótidos particular es al menos un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a una secuencia de nucleótidos de la presente invención puede determinarse de forma convencional utilizando programas de ordenador conocidos, como los descritos anteriormente para los polipéptidos (por ejemplo, ALIGN-2).

El término "casete de expresión" se refiere a un polinucleótido generado de forma recombinante o de forma sintética, con una serie de elementos de ácido nucleico específicos que permiten la transcripción de un ácido nucleico

particular en una célula diana. El casete de expresión recombinante puede incorporarse en un plásmido, cromosoma, DNA mitocondrial, DNA plasmídico, virus, o fragmento de ácido nucleico. Normalmente, la porción de un casete de expresión recombinante de un vector de expresión incluye, entre otras

5 secuencias, una secuencia de ácido nucleico a transcribir y un promotor. En ciertas realizaciones, el casete de expresión de la invención comprende secuencias de polinucleótido que codifican inmunoconjugados de la invención o fragmentos de los mismos.

El término "vector" o "vector de expresión" es sinónimo de "construcción

10 de expresión" y se refiere a una molécula de DNA que se utiliza para introducir y dirigir la expresión de un gen específico al que se asocia de forma operativa en una célula diana. El término incluye el vector como una estructura de ácido nucleico autoreplicativa así como el vector incorporado en el genoma de una célula huésped en el que se ha introducido. El vector de expresión de la

15 presente invención comprende un casete de expresión. Los vectores de expresión permiten la transcripción de grandes cantidades de mRNA estable. Una vez el vector de expresión está dentro de la célula diana, la molécula o proteína de ácido ribonucleico que está codificada por el gen está producida por la transcripción celular y/o maquinaria de traducción. En una realización, el

20 vector de expresión de la invención comprende un casete de expresión que comprende secuencias de polinucleótido que codifica inmunoconjugados de la invención o fragmentos de los mismos.

El término "artificial" se refiere a una composición sintética, o no derivada de una célula huésped, por ejemplo, un oligonucleótido sintetizada de forma

25 química.

Los términos "célula huésped", "línea de células huésped" y "cultivo de células huésped" se utilizan de forma intercambiable y se refieren a células en

las que se ha introducido un ácido nucleico exógeno, incluyendo la progenie de dichas células. Las células huésped incluyen "transformante" y "células transformadas" que incluye la célula primaria transformada y la progenie derivada de la misma sin tener en cuenta el número de pases. La progenie puede no ser completamente idéntica en el contenido de ácidos nucleicos respecto a una célula parental, pero puede contener mutaciones. La progenie mutante que posee la misma función o actividad biológica con la que se ha encontrado o seleccionado en la célula originalmente transformada están incluidos aquí. Una célula huésped es cualquier tipo de sistema celular que puede utilizarse para generar los inmunoconjugados utilizados para la presente invención. En una realización, la célula huésped está modificada para permitir la producción de un inmunoconjugado con oligosacáridos modificados en su región Fc. En ciertas realizaciones, las células huésped han sido manipuladas para expresar niveles aumentados de uno o más polipéptidos que poseen actividad $\beta(1,4)$ -N-acetilglucosaminiltransferasa III (GnTIII). En ciertas realizaciones las células huésped se han manipulado además para expresar niveles aumentados de uno o más polipéptidos con actividad α -manosidasa II (ManII). Las células huésped incluyen células cultivadas, por ejemplo, células cultivadas de mamífero, 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 citar sólo unas cuantas, pero también células comprendidas en un animal transgénico, planta transgénico o planta cultivada o tejido animal.

25 Tal como se utiliza aquí, el término "polipéptido que posee actividad GnTIII" se refiere a polipéptidos que son capaces de catalizar la adición de un residuo de N-acetilglucosamina (GlcNAc) en una unión β -1,4 hacia el manósido β -unido del núcleo trimanosil de los oligosacáridos N-unidos. Esto incluye

polipéptidos de fusión que presentan una actividad enzimática similar a, pero no necesariamente idéntica a, una actividad de $\beta(1,4)$ -N-acetilglucosaminiltransferasa III, también conocida como β -1,4-manosilglucoproteína 4-beta-N-acetilglucosaminil-transferasa (EC 2.4.1.144), de acuerdo con el Comité de Nomenclatura de Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (NC-IUBMB), tal como se mide en un ensayo biológico particular, con o sin dependencia de dosis. En el caso que la dependencia de dosis exista, no necesita ser idéntica a la de GnTIII, sino más bien sustancialmente similar a la dependencia de dosis en una actividad determinada en comparación con la GnTIII (es decir, el polipéptido candidato presentará mayor actividad o no más de alrededor de 25 veces menos y, preferiblemente, no más de alrededor de diez veces menos actividad, y lo más preferible, no más de alrededor de tres veces menos actividad en relación a GnTIII). En ciertas realizaciones el polipéptido con actividad GnTIII es un polipéptido de fusión que comprenden el dominio catalítico de GnTIII y el dominio de localización de Golgi de un polipéptido residente heterólogo de Golgi. En particular, el dominio de localización de Golgi es el dominio de localización de la manosidasa II o GnTI, más en particular el dominio de localización de la manosidasa II. Alternativamente, el dominio de localización de Golgi está seleccionado entre el grupo que consiste de: el dominio de localización de manosidasa I, el dominio de localización de GnTII, y el dominio de localización de α 1,6 fucosiltransferasa del núcleo. Los métodos para generar dichos polipéptidos de fusión y utilizarlos para producir anticuerpos con funciones efectoras aumentadas se describen en WO 2004/065540, Solicitud de Pat. Estadounidense Provisional N° 60/495,142 y Solicitud de Publ. de Pat. Estadounidense N° 2004/0241817, el contenido completo de los cuales se incorporan de forma expresa aquí por referencia.

Tal como se utiliza aquí, el término “dominio de localización de Golgi” se refiere a la secuencia de aminoácidos de un polipéptido residente en Golgi que

es responsable de anclar el polipéptido a una locación dentro del complejo de Golgi. Generalmente, los dominios de localización comprenden "colas" amino terminales de una enzima.

Tal como se utiliza aquí, el término "polipéptido con actividad ManII " se refiere a polipéptidos que son capaces de catalizar la hidrólisis de los residuos 1,3 y 1,6-unido α -D-manosa terminales en el intermediario $\text{GlcNAcMan}_5\text{GlcNAc}_2$ manosa ramificado de los oligosacáridos N-unidos. Esto incluye polipéptidos que presentan actividad enzimática similar a, pero no necesariamente idéntica a, una actividad de α -manosidasa II de Golgi, también conocida como manosil oligosacárido 1,3-1,6- α -manosidasa II (EC 3.2.1.114), de acuerdo con el Comité de Nomenclatura de Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (NC-IUBMB).

Un "receptor de Fc activador" es un receptor de Fc que tras la unión de una región Fc de un anticuerpo (o inmunoconjugado) provoca eventos de señalización que estimulan las funciones efectoras a realizar por la célula portadora de receptor. Los receptores de Fc activadores incluye $\text{Fc}\gamma\text{RIIIa}$ (CD16a), $\text{Fc}\gamma\text{RI}$ (CD64), $\text{Fc}\gamma\text{RIIa}$ (CD32), y $\text{Fc}\alpha\text{RI}$ (CD89).

La citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (CCDA) es un mecanismo inmunitario que lleva a la lisis de células diana recubiertas de anticuerpo mediante células inmunitarias efectoras. Las células diana son células a las que los anticuerpos, inmunoconjugados o fragmentos de los mismos que comprenden una región Fc específicamente se unen, generalmente mediante la parte de proteína que es N-terminal a la región Fc. Tal como se utiliza aquí, el término "CCDA" se define tanto como un aumento en el número de células diana que están lisadas en un tiempo determinado, a una concentración determinada de un inmunoconjugado en el medio que rodea a las células diana, mediante el mecanismo de CCDA definido anteriormente, y/o una

reducción en la concentración de inmunoconjugados, en el medio que rodea a las células diana, necesarias para lograr la lisis de un número determinado de células diana en un tiempo determinado, mediante el mecanismo de CCDA. El aumento de CCDA está relacionado con la CCDA mediada por el mismo
5 inmunoconjugado producido por el mismo tipo de células huésped, utilizando los mismos métodos estándar de producción, purificación, formulación y almacenamiento (que son conocidos por los expertos en la materia), pero que no han sido modificados. Por ejemplo el aumento en la CCDA mediada por un
10 inmunoconjugado producido por células huésped modificadas para tener un patrón alterado de glucosilación (por ejemplo, para expresar la glucosiltransferasa, GnTIII, u otras glucosiltransferasas) mediante los métodos descritos aquí, está relacionado con la CCDA mediada por el mismo
inmunoconjugado producido por el mismo tipo de células huésped no modificadas.

15 Por “inmunoconjugado con anticuerpo citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (CCDA) aumentada” se entiende un inmunoconjugado con una CCDA aumentada determinada por cualquier método adecuado conocido por un experto en la materia. Un ensayo CCDA aceptado *in vitro* es el siguiente:

20 1) el ensayo utiliza células diana que son conocidas porque expresan el antígeno diana reconocido por la porción de unión a antígeno del inmunoconjugado;

2) el ensayo utiliza células mononucleares de sangre periférica humanas (CMSP), aisladas de la sangre de donantes sanos elegidos al azar, como células efectoras;

25 3) el ensayo se lleva a cabo de acuerdo con el siguiente protocolo:

i) las CMSP se aíslan utilizando procedimientos de centrifugación por

densidad estándar y se suspenden a 5×10^6 células/ml en medio de cultivo celular RPMI;

ii) las células diana se hacen crecer mediante métodos de cultivo de tejidos estándar, recogidos a partir de la fase de crecimiento exponencial con una viabilidad superior al 90%, lavados en medio de cultivo celular RPMI, marcados con 100 micro-Curies de ^{51}Cr , lavados dos veces con medio de cultivo celular, y resuspendidos en medio de cultivo celular a una densidad de 10^5 células/ml;

iii) 100 microlitros de la suspensión de células diana final anterior se transfieren a cada pocillo de una placa microtitulada de 96 pocillos;

iv) el inmunoconjugado se diluye de forma seriada a partir de 4000 ng/ml hasta 0,04 ng/ml en medio de cultivo celular y 50 microlitros de las soluciones de inmunoconjugado resultantes se añaden a las células diana en la placa microtitulada de 96 pocillos, analizando por triplicado varias concentraciones de inmunoconjugado que cubre el rango completo de la concentración anterior;

v) para los controles de máxima liberación (MR), 3 pocillos adicionales en la placa que contenía las células diana marcadas, recibieron 50 microlitros de una solución acuosa al 2% (V/V) de detergente no iónico (Nonidet, Sigma, St. Louis), en lugar de la solución de inmunoconjugado (punto iv anterior);

vi) para los controles de liberación espontánea (SR), 3 pocillos adicionales en la placa que contenía las células diana marcadas, recibieron 50 microlitros de medio de cultivo celular RPMI en lugar de la solución de inmunoconjugado (punto iv anterior);

vii) la placa microtitulada de 96 pocillos se centrifugó entonces a 50 x g durante 1 minuto y se incubó durante 1 hora a 4°C;

viii) 50 microlitros de la suspensión de CMSP (punto i anterior) se añadieron a cada pocillo para proporcionar una proporción de efector: célula
5 diana de 25:1 y las placas se colocaron en un incubador bajo una atmósfera del 5% de CO₂ a 37°C durante 4 horas;

ix) el sobrenadante libre de células de cada pocillo se recogió y la radioactividad liberada de forma experimental (ER) se cuantificó utilizando un contador gamma;

10 x) el porcentaje de lisis específica se calculó para cada concentración de inmunoconjugado de acuerdo con la fórmula $(ER-MR)/(MR-SR) \times 100$, en la que ER es la radioactividad media cuantificada (véase punto ix anterior) para la concentración de inmunoconjugado, MR es la radioactividad media cuantificada (véase punto ix anterior) para los controles de MR (véase punto v anterior), y SR
15 es la radioactividad media cuantificada (véase punto ix anterior) para los controles de SR (véase punto vi anterior);

4) “CCDA aumentada” se define tanto como un aumento en el porcentaje máximo de lisis específica observada dentro del rango de concentración de inmunoconjugado analizado anteriormente, y/o una reducción
20 en la concentración de inmunoconjugado necesario para lograr la mitad del porcentaje máximo de la lisis específica observada dentro del rango de concentración de inmunoconjugado analizado anteriormente. El aumento en la CCDA es en relación a la CCDA, medida en el ensayo anterior, mediado por el mismo inmunoconjugado, producido por el mismo tipo de células huésped,
25 utilizando los mismos métodos de producción, purificación, formulación y almacenamiento estándar, que son conocidos por los expertos en la materia,

pero que no se han modificado.

Una "cantidad efectiva " de un agente se refiere a la cantidad que es necesaria para resultar en un cambio fisiológico en la célula o tejido al que se administra.

- 5 Una "cantidad terapéuticamente efectiva" de un agente, por ejemplo, una composición farmacéutica, se refiere a una cantidad efectiva, en dosificaciones y durante periodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado terapéutico o profiláctico deseado. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente por ejemplo elimina, disminuye, retrasa, minimiza o previene efectos adversos de
10 una enfermedad.

- Un "individuo" o "sujeto" es un mamífero. Los mamíferos incluyen, pero no se limitan a, animales domesticados (por ejemplo, vacas, ovejas, gatos, perros, y caballos), primates (por ejemplo, humanos y primates no humanos como monos), conejos, y roedores (por ejemplo, ratones y ratas). En particular, el
15 individuo o sujeto es un humano.

- El término "composición farmacéutica" se refiere a una preparación que está en dicha forma de forma que permite la actividad biológica de un ingrediente activo contenido en este para ser efectivo, y que no contiene componentes adicionales que son inaceptablemente tóxicos a un sujeto al que
20 la formulación se le va a administrar.

Un "transportador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un ingrediente en una composición farmacéutica, diferente al ingrediente activo, que no es tóxico para un sujeto. Un transportador farmacéuticamente aceptable incluye, pero no se limita a, un tampón, excipiente, estabilizante, o conservante.

- 25 Tal como se utiliza aquí, "tratamiento" (y las variaciones gramaticales de

los mismos como “tratar” o “tratando”) se refiere a una intervención clínica en un intento de alterar el curso natural de una enfermedad en el individuo a tratar, y puede realizarse para prevenir o durante el curso de la patología clínica. Los efectos deseables del tratamiento incluye, pero no se limita a, prevenir la

5 aparición o recurrencia de la enfermedad, alivio de los síntomas, disminución de cualquier consecuencia patológica directa o indirecta de la enfermedad, prevenir la metástasis, disminuir la tasa de progresión de la enfermedad, mejoría o alivio del estado de la enfermedad, y remisión o mejora del pronóstico. En algunas realizaciones, los inmunoconjugados de la invención se utilizan para retrasar el

10 desarrollo de una enfermedad o para enlentecer la progresión de una enfermedad.

El término “prospecto” se utiliza para referirse a las instrucciones incluidas habitualmente en los paquetes comerciales de los productos terapéuticos, que contienen información alrededor de las indicaciones, utilización, dosificación,

15 administración, terapia de combinación, contraindicaciones y/o alertas referentes al uso de dichos productos terapéuticos.

Descripción detallada de las realizaciones

En un primer aspecto, la invención proporciona un inmunoconjugado que comprende una primera porción de unión a antígeno, un dominio Fc que

20 consiste de dos subunidades, y una porción efectora, en la que no más de una porción efectora está presente. La ausencia de porciones efectoras adicionales puede reducir la localización del inmunoconjugado a lugares en los que la porción efectora del correspondiente receptor está presentado, mejorando así la localización y acumulación en lugares en los que el antígeno diana actual del

25 inmunoconjugado, que está reconocido por la porción de unión a antígeno, está presentado. Además, la ausencia de un efecto de avidéz para el correspondiente receptor de la porción efectora puede reducir la activación del

receptor de la porción efectora de las células positivas en sangre periférica tras la administración intravenosa del inmunoconjugado. Además, la vida media en suero de los inmunoconjugados que comprenden solo una porción efectora única parece ser mayor si se compara con los inmunoconjugados que
 5 comprenden dos o más porciones efectoras.

Formatos de inmunoconjugado

Los componentes del inmunoconjugado pueden fusionarse entre ellos en una serie de configuraciones. Ejemplos de configuraciones se describen en la Figura 2. En una realización la porción efectora está fusionada con el
 10 aminoácido amino- o carboxi-terminal de una de las dos subunidades del dominio Fc. En una realización la porción efectora está fusionada al aminoácido carboxi-terminal de una de las dos subunidades del dominio Fc. La porción efectora puede fusionarse al dominio Fc directamente o a través de un péptido enlazante, que comprenden uno o más aminoácidos, normalmente alrededor de
 15 2-20 aminoácidos. Los enlazantes peptídicos son conocidos en la materia o se describen aquí. Enlazantes peptídicos adecuados, no inmunogénicos incluye, por ejemplo, enlazantes peptídicos $(G_4S)_n$, $(SG_4)_n$ o $G_4(SG_4)_n$. “n” es generalmente un número entre 1 y 10, normalmente entre 2 y 4. De forma alternativa, cuando la porción efectora está unida al extremo N-terminal de una
 20 subunidad del dominio Fc, puede estar unido mediante una región bisagra de una inmunoglobulina o una porción de los mismos, con o sin un péptido enlazante adicional.

De forma similar, la primera porción de unión a antígeno puede fusionarse al aminoácido amino- o carboxi-terminal de una de las dos subunidades del
 25 dominio Fc. En una realización la primera porción de unión a antígeno está fusionada al aminoácido amino-terminal de una de las dos subunidades del dominio Fc. La primera porción de unión a antígeno puede fusionarse al dominio

Fc directamente o a través de un péptido enlazante. En una realización particular la primera porción de unión a antígeno está fusionada al dominio Fc a través de una región bisagra de inmunoglobulina. En una realización específica, la región bisagra de inmunoglobulina es una región bisagra de IgG₁ humana.

- 5 En una realización la primera porción de unión a antígeno comprende un dominio de unión a antígeno de un anticuerpo, que comprende una región variable de cadena pesada de un anticuerpo y una región variable de cadena ligera de un anticuerpo. En una realización particular la primera porción de unión a antígeno es una molécula Fab. En una realización la molécula Fab está
- 10 fusionada a su extremo carboxi-terminal de la cadena ligera o pesada al aminoácido amino-terminal de una de las dos subunidades del dominio Fc. En una realización particular la molécula Fab está fusionada a su extremo carboxi-terminal de la cadena pesada al aminoácido amino-terminal de una de las dos subunidades del dominio Fc. En una realización más particular la molécula Fab
- 15 está fusionada al dominio Fc a través de una región bisagra de inmunoglobulina. En una realización específica, la región bisagra de inmunoglobulina es una región bisagra de IgG₁ humana.

- En una realización el inmunoconjugado esencialmente consiste en una porción de unión a antígeno, un dominio Fc que consiste en dos subunidades,
- 20 una porción efectora, y opcionalmente uno o más enlazantes peptídicos, en el que dicho dominio de unión a antígeno es una molécula Fab y está fusionada a su extremo carboxi-terminal de la cadena pesada al aminoácido amino-terminal de una de las dos subunidades del dominio Fc, y en el que dicha porción efectora está fusionada a (i) el aminoácido amino-terminal de la otra de las dos
- 25 subunidades del dominio Fc, o (ii) al aminoácido carboxi-terminal de una de las dos subunidades del dominio Fc. En el último caso, la porción efectora y la primera porción de unión a antígeno pueden estar ambas fusionadas a la misma

subunidad del dominio Fc, o pueden cada una estar fusionadas a una subunidad diferente de las dos subunidades del dominio Fc.

Un formato de inmunoconjugado con una porción de unión única a antígeno (por ejemplo tal como se muestra en la Figura 2B y 2C) es útil, particularmente en los casos en los que la internalización del antígeno diana se espera que siga a la unión de una porción de unión de alta afinidad al antígeno. En tales casos, la presencia de más de una porción de unión a antígeno por inmunoconjugado puede aumentar la internalización, reduciendo así la disponibilidad del antígeno diana.

En muchos otros casos, no obstante, será ventajoso tener un inmunoconjugado que comprende dos o más porciones de unión a antígeno y una única porción efectora para optimizar la localización al antígeno diana versus el receptor de la porción efectora, y la ventana farmacéutica del inmunoconjugado.

Así, en una realización particular el inmunoconjugado de la invención comprende una primera y una segunda porción de unión a antígeno. En una realización cada una de dichas primera y segunda porciones de unión a antígeno está fusionada al aminoácido amino-terminal de una de las dos subunidades del dominio Fc. La primera y segunda porciones de unión a antígeno pueden fusionarse al dominio Fc directamente o a través de un enlazante peptídico. En una realización particular cada una de dichas primera y segunda porciones de unión a antígeno está fusionada a una subunidad del dominio Fc a través de una región bisagra de inmunoglobulina. En una realización específica, la región bisagra de inmunoglobulina es una región bisagra de IgG₁ humano.

En una realización cada una de dichas primera y segunda porciones de

unión a antígeno comprende un dominio de unión a antígeno de un anticuerpo, que comprende una región variable de cadena pesada de un anticuerpo y una región variable de anticuerpo de cadena ligera de un anticuerpo. En una realización particular cada una de dichas primera y segunda porciones de unión

5 a antígeno es una molécula Fab. En una realización cada una de dichas moléculas Fab está fusionada a su extremo carboxi-terminal de cadena ligera o pesada al aminoácido amino-terminal de una de las dos subunidades del dominio Fc. En una realización particular cada una de dichas moléculas Fab está fusionada a su extremo carboxi-terminal de cadena pesada al aminoácido

10 amino-terminal de una de las dos subunidades del dominio Fc. En una realización más particular cada una de dichas moléculas Fab está fusionada a una subunidad del dominio Fc a través de una región bisagra de inmunoglobulina. En una realización específica, la región bisagra de inmunoglobulina es una región bisagra de IgG₁ humano.

15 En una realización la primera y la segunda porción de unión a antígeno y el dominio Fc son parte de una molécula de inmunoglobulina. En una realización particular la molécula de inmunoglobulina es una inmunoglobulina de clase IgG. En aún una realización más particular la inmunoglobulina es una inmunoglobulina de subclase IgG₁. En otra realización particular la

20 inmunoglobulina es una inmunoglobulina humana. En otras realizaciones la inmunoglobulina es una inmunoglobulina quimérica o una inmunoglobulina humanizada. En una realización la porción efectora está fusionada al aminoácido carboxi-terminal de una de las cadenas pesadas de la inmunoglobulina. La porción efectora puede fusionarse a la cadena pesada de

25 inmunoglobulina directamente o a través de un enlazante peptídico. En una realización particular el inmunoconjugado consiste esencialmente en una molécula de inmunoglobulina, una porción efectora fusionada al aminoácido carboxi-terminal de una de las cadenas pesadas de inmunoglobulina, y

opcionalmente uno o más enlazantes peptídicos.

En una realización el inmunoconjugado comprende un polipéptido en el que una cadena pesada Fab comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc y un polipéptido en el que una subunidad del dominio Fc comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con un polipéptido de porción efectora. En otra realización, el inmunoconjugado comprende un polipéptido en el que una primera cadena pesada de Fab comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc, y un polipéptido en el que una segunda cadena pesada de Fab comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc, que a su vez comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una polipéptido de porción efectora. En otra realización el inmunoconjugado comprende un polipéptido en el que una cadena pesada de Fab comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc y un polipéptido en el que un polipéptido de la porción efectora comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc. En algunas realizaciones el inmunoconjugado comprende además un polipéptido de cadena ligera de Fab. En ciertas realizaciones los polipéptidos están unidos de forma covalente, por ejemplo, por un enlace disulfuro.

De acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores, componentes del inmunoconjugado (por ejemplo, porción efectora, porción de unión a antígeno, dominio Fc) puede estar unido directamente o a través de varios enlazantes, en particular enlazantes peptídicos que comprenden uno o más aminoácidos, normalmente alrededor de 2-20 aminoácidos, que se describen aquí o son conocidos en la materia. Enlazantes peptídicos adecuados, no inmunogénicos incluyen, por ejemplo, enlazantes peptídicos $(G_4S)_n$, $(SG_4)_n$ o $G_4(SG_4)_n$, en los que n es generalmente un número entre 1 y 10, normalmente entre 2 y 4.

Dominio Fc

El dominio Fc del inmunoconjugado consiste de una pareja de cadenas de polipéptido que comprenden dominios de cadena pesada de una molécula de inmunoglobulina. Por ejemplo, el dominio Fc de una molécula de
 5 inmunoglobulina G (IgG) es un dímero, cada una de estas subunidades comprende los dominios constantes CH2 y CH3 de la cadena pesada de IgG. Las dos subunidades del dominio Fc son capaces de establecer una asociación estable con la otra. En una realización el inmunoconjugado de la invención comprende no más de un dominio Fc.

10 En una realización de acuerdo con la invención el dominio Fc del inmunoconjugado es un dominio Fc de IgG. En una realización particular el dominio Fc es un dominio Fc de IgG₁. En otra realización particular el dominio Fc es un dominio IgG₄ de Fc. En otra realización particular el dominio Fc es humano. Un ejemplo de secuencia de una humano región Fc de IgG₁ humana
 15 se proporciona en el Id. de Sec. N°: 1:

El dominio Fc confiere al inmunoconjugado una vida media en suero enormemente prolongada en comparación con los formatos de inmunoconjugado que carecen del dominio Fc. En particular, cuando el
 20 inmunoconjugado comprende una porción efectora con una actividad más bien débil (pero con una toxicidad reducida), una vida media larga será esencial para alcanzar una eficacia óptima in vivo. Además, el dominio Fc puede mediar funciones efectoras, tal como se describirá más adelante.

Modificaciones del dominio Fc que promueven la heterodimerización

Los inmunoconjugados de acuerdo con la invención comprenden solo una
 25 porción efectora única, fusionada con una de las dos subunidades del dominio Fc, así comprenden dos cadenas de polipéptido no idénticas. La coexpresión

recombinante de estos polipéptidos y la posterior dimerización conduce a varias posibles combinaciones de los dos polipéptidos, de los cuales solo los heterodímeros de los dos polipéptidos no idénticos son útiles de acuerdo con la invención. Para mejorar el rendimiento y la pureza de los inmunoconjugados en la producción recombinante, puede ser ventajoso introducir en el dominio Fc del inmunoconjugado una modificación que impida la formación de homodímeros de dos polipéptidos idénticos (es decir, dos polipéptidos que comprenden una porción efectora, o dos polipéptidos que carecen de una porción efectora) y/o promueve la formación de heterodímeros de un polipéptido que comprende una porción efectora y un polipéptido que carece de una porción efectora.

De este modo, en ciertas realizaciones de acuerdo con la invención el dominio Fc del inmunoconjugado comprende una modificación que promueve la heterodimerización de dos cadenas de polipéptido no idénticas. El lugar de interacción proteína-proteína más intensa entre las dos cadenas de polipéptido de un dominio Fc de IgG humana está en el dominio CH3 del dominio Fc. Así, en una realización dicha modificación está en el dominio CH3 del dominio Fc.

En una realización específica dicha modificación es una modificación botón en ojal, que comprende una modificación de tipo botón en una de las dos subunidades del dominio Fc y una modificación de tipo ojal en la otra de las dos subunidades del dominio Fc.

La tecnología botón en ojal se describe por ejemplo, en 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). Generalmente, el método implica la introducción de una protuberancia (“botón”) en la interficie de un primer polipéptido y la correspondiente cavidad (“ojal”) en la interficie de un segundo polipéptido, de forma que la protuberancia puede posicionarse en la cavidad de forma que promueve la formación de heterodímeros e impide la formación de homodímeros.

Las protuberancias se construyen mediante la sustitución de cadenas laterales de aminoácidos pequeños de la interfície del primer polipéptido con mayores cadenas laterales (por ejemplo, tirosina o triptófano). Las cavidades compensatorias de tamaño idéntico o similar a las protuberancias se crean en la interfície del segundo polipéptido sustituyendo cadenas laterales de aminoácidos grandes con unos más pequeños (por ejemplo, alanina o treonina). La protuberancia y cavidad pueden formarse alterando el ácido nucleico que codifica a los polipéptidos, por ejemplo, mediante mutagénesis específica de sitio, o mediante síntesis peptídica. En una realización específica una modificación de tipo botón comprende la sustitución de aminoácidos T366W en una de las dos subunidades del dominio Fc, y la modificación de tipo ojal comprende las sustituciones de aminoácido T366S, L368A y Y407V en la otra de las dos subunidades del dominio Fc. En otra realización específica, la subunidad del dominio Fc que comprende la modificación de tipo botón de forma adicional comprende la sustitución de aminoácidos S354C, y la subunidad del dominio Fc que comprende la modificación de tipo ojal de forma adicional comprende la sustitución de aminoácidos Y349C. La introducción de estos dos residuos de cisteína resulta en la formación de un puente disulfuro entre las dos subunidades de la región Fc, que estabiliza además el dímero (Carter, J Immunol Métodos 248, 7-15 (2001)).

En una realización alternativa una modificación que promueve la heterodimerización de dos cadenas de polipéptido no idénticas comprende una modificación mediadora de los efectos de orientación electroestática, por ejemplo, tal como se describe en la publicación PCT WO 2009/089004. Generalmente, este método implica la sustitución de uno o más residuos de aminoácido en la interfície de las dos cadenas de polipéptido mediante residuos de aminoácidos cargados por lo que la formación de homodímeros pasa a ser electroestáticamente desfavorable pero la heterodimerización

electroestáticamente favorable.

En una realización particular la porción efectora está fusionada con el aminoácido amino- o carboxi-terminal de la subunidad del dominio Fc que comprende la modificación en botón. Sin pretender adherirse a la teoría, la fusión de la porción efectora a la subunidad del dominio Fc que contiene el
5 botón minimizará además la generación de inmunoconjugados homodiméricos que comprenden dos porciones efectoras (choque estérico de dos polipéptidos que contienen el botón).

Modificaciones del dominio Fc que alteran la unión al receptor de Fc

10 En ciertas realizaciones de la invención el dominio Fc del inmunoconjugado está modificado para tener la afinidad de unión alterada a un receptor Fc, específicamente la afinidad de unión alterada a un receptor Fc γ , en comparación con un dominio Fc no modificado.

La unión a los receptores de Fc puede determinarse fácilmente por ejemplo, mediante ELISA, o mediante Resonancia de Plasmón de Superficie (SPR) utilizando instrumentación estándar como un instrumento BIAcore (GE Healthcare), y los receptores de Fc pueden obtenerse mediante expresión recombinante. Un ensayo de unión adecuado se describe en este documento. De forma alternativa, la afinidad de unión de los dominios Fc o los
15 inmunoconjugados que comprenden un dominio Fc para los receptores de Fc puede evaluarse utilizando líneas celulares conocidas por expresar los receptores de Fc particulares, como las células NK que expresan el receptor Fc γ IIIa.
20

En algunas realizaciones el dominio Fc del inmunoconjugado está
25 modificado para tener las funciones efectoras alteradas, en particular la CCDA alterada, en comparación con un dominio Fc no modificado.

La función efectora de un dominio Fc, o un inmunconjugado que comprende un dominio Fc, puede medirse mediante los métodos conocidos en la materia. Un ensayo adecuado para medir la CCDA se describe en este documento. otros ejemplos de ensayos *in vitro* para evaluar la actividad CCDA de una molécula de interés se describe en la Patente Estadounidense N° 5.500.362; Hellstrom et al. Proc Natl Acad Sci USA 83, 7059-7063 (1986) y Hellstrom et al., Proc Natl Acad Sci USA 82, 1499-1502 (1985); Patente Estadounidense N° 5.821.337; Bruggemann et al., J Exp Med 166, 1351-1361 (1987). De forma alternativa, pueden emplearse métodos de ensayos no radioactivos (véase, por ejemplo, ensayo de citotoxicidad no radioactiva ACTI™ para citometría de flujo (CellTechnology, Inc. Mountain View, CA); y ensayo de citotoxicidad no radioactiva CytoTox 96® (Promega, Madison, WI)). Las células efectoras útiles para dichos ensayos incluye células mononucleares de sangre periférica (CMSP) y células Natural Killer (NK). De forma alternativa, o de forma adicional, la actividad CCDA de la molécula de interés puede evaluarse in vivo, por ejemplo, es un modelo animal como el descrito en Clynes et al., Proc Natl Acad Sci USA 95, 652-656 (1998).

En algunas realizaciones la unión del dominio Fc a un componente del complemento, específicamente a C1q, está alterada. De este modo, en algunas realizaciones en las que el dominio Fc está modificado para tener una función efectora alterada, dicha función efectora alterada incluye CDC alterada. Los ensayos de unión C1q pueden llevarse a cabo para determinar si el inmunconjugado es capaz de unir C1q y por lo tanto posee actividad CDC. Véase por ejemplo, ELISA de unión a C1q y C3c en WO 2006/029879 y WO 2005/100402. Para evaluar la activación del complemento, puede realizarse un ensayo CDC (véase, por ejemplo, Gazzano-Santoro et al., J Immunol Métodos 202, 163 (1996); Cragg et al., Blood 101, 1045-1052 (2003); y Cragg y Glennie, Blood 103, 2738-2743 (2004)).

a) Disminución de la unión al receptor de Fc y/o función efectora

El dominio Fc confiere al inmunoconjugado propiedades farmacocinéticas favorables, que incluye una vida media larga en suero que contribuyo a una buena acumulación en el tejido diana y una proporción de distribución tejido-sangre favorable. Al mismo tiempo puede, no obstante, conducir a una localización indeseable del inmunoconjugado a células que expresan los receptores de Fc en lugar de las células portadoras de antígeno preferibles. Además, la coactivación de las rutas de señalización del receptor de Fc pueden conducir a una liberación de citoquina que, en combinación con la porción efectora y la vida media larga del inmunoconjugado, resulta en una activación excesiva de los receptores de citoquina y efectos secundarios graves tras la administración sistemática. De acuerdo con esto, los inmunoconjugados IgG-IL-2 convencionales se han descrito por estar asociados con reacciones de infusión (véase por ejemplo, King et al., J Clin Oncol 22, 4463-4473 (2004)).

De este modo, en realizaciones particulares de acuerdo con la invención el dominio Fc del inmunoconjugado está modificado para tener afinidad de unión reducida a un receptor de Fc. En una de dichas realizaciones el dominio Fc comprende una o más mutaciones de aminoácidos que reduce la afinidad de unión del dominio Fc a un receptor Fc. Normalmente, la misma única o más mutaciones de aminoácidos están presentes en cada una de las dos subunidades del dominio Fc. En una realización dicha mutación de aminoácido reduce la afinidad de unión del dominio Fc al receptor de Fc en al menos 2 veces, al menos 5 veces, o al menos un 10 veces. En realizaciones en las que existe más de una mutación de aminoácidos que reduce la afinidad de unión del dominio Fc hacia el receptor Fc, la combinación de estas mutaciones de aminoácidos puede reducir la afinidad de unión del dominio Fc hacia el receptor de Fc en al menos 10 veces, al menos 20 veces, o incluso hasta 50 veces. En

una realización el inmunoconjugado que comprende un dominio Fc modificado presenta menos de un 20%, en particular menos de un 10%, más particularmente menos de un 5% de la afinidad de unión a un receptor de Fc en comparación con un inmunoconjugado que comprende un dominio Fc no modificado. En una realización el receptor de Fc es un receptor de Fc activador. En una realización específica el receptor de Fc es un receptor de Fcγ, más específicamente un receptor de FcγRIIIa, FcγRI o FcγRIIa. Preferiblemente, la unión a cada uno de estos receptores está reducida. En algunas realizaciones la afinidad de unión a un componente de complemento, específicamente la afinidad de unión a C1q, también está reducida. En una realización la afinidad de unión al receptor de Fc neonatal (FcRn) no está reducida. Sustancialmente similar la unión a FcRn, es decir, la preservación de la afinidad de unión del dominio Fc a dicho receptor, se consigue cuando el dominio Fc (o el inmunoconjugado que comprende dicho dominio Fc) presenta más de alrededor del 70% de la afinidad de unión de una forma no modificada del dominio Fc (o el inmunoconjugado que comprende dicha forma no modificada del dominio Fc) hacia FcRn. Los dominios Fc, o inmunoconjugados de la invención que comprenden dichos dominios Fc, pueden presentar más de alrededor de un 80% e incluso más de alrededor de un 90% de dicha afinidad. En una realización la mutación de aminoácidos es una sustitución de aminoácidos. En una realización el dominio Fc comprende una sustitución de aminoácidos en la posición P329. En una realización más específica la sustitución de aminoácidos es P329A o P329G, en particular P329G. En una realización el dominio Fc comprende otra sustitución de aminoácidos en una posición seleccionada entre S228, E233, L234, L235, N297 y P331. En una realización más específica otra sustitución de aminoácidos es S228P, E233P, L234A, L235A, L235E, N297A, N297D o P331S. En una realización particular el dominio Fc comprende las sustituciones de aminoácidos en las posiciones P329, L234 y L235. En una realización más

particular el dominio Fc comprende las mutaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G (LALA P329G). Esta combinación de sustituciones de aminoácidos casi elimina por completo la unión del receptor Fcγ de un dominio Fc de IgG humana, tal como se describe en la Solicitud de patente Europea nº

5 PE 11160251.2, incorporada aquí por referencia en su totalidad. La PE 11160251.2 también describe métodos para preparar dichos dominios de Fc mutantes y los métodos para determinar sus propiedades como la unión al receptor de Fc o funciones efectoras.

Los dominios de Fc mutantes pueden prepararse mediante delección,

10 sustitución, inserción o modificación de aminoácidos utilizando métodos genéticos o químicos bien conocidos en la materia. Los métodos genéticos pueden incluir mutagénesis específica de sitio de la secuencia de DNA codificante, PCR, síntesis génica y similares. Los cambios de nucleótido correcto pueden verificarse por ejemplo mediante secuenciación.

15 En una realización el dominio Fc está modificado por tener una función efectora disminuida, en comparación con un dominio Fc no modificado. La función efectora disminuida puede incluir, pero no se limita a, una o más de las siguientes: citotoxicidad dependiente del complemento disminuida (CDC), citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos disminuida (CCDA), fagocitosis

20 celular dependiente de anticuerpo disminuida (FCDA), secreción de citoquinas disminuida, incorporación de antígeno mediada por inmunocomplejos mediante células presentadoras de antígeno disminuida, unión a células NK disminuida, unión a macrófagos disminuida, unión a monocitos disminuida, unión a células polimorfonucleares disminuida, apoptosis inducida por señalización directa

25 disminuida, entrecruzamiento de anticuerpos unidos a diana disminuida, maduración de células dendríticas disminuida, o cebado de células T disminuida.

En una realización la función efectora disminuida es una o más de una de

las seleccionadas entre el grupo de CDC disminuida, CCDA disminuida, FCDA disminuida, y secreción de citoquinas disminuida. En una realización particular la función efectora disminuida es CCDA disminuida. En una realización la CCDA disminuida es menos del 20% de la CCDA inducida por un dominio Fc no
5 modificado (o un inmunoconjugado que comprende un dominio Fc no modificado).

Además de los dominios Fc descritos hasta aquí y en la Solicitud de patente Europea nº PE 11160251.2, los dominios Fc con unión reducida al receptor de Fc y/o función efectora reducida también incluye aquellas con la
10 sustitución de uno o más de un residuo del dominio Fc en 238, 265, 269, 270, 297, 327 y 329 (Patente Estadounidense Nº 6.737.056). Dichos mutantes de Fc incluye mutantes de Fc con sustituciones en dos o más posiciones de aminoácido 265, 269, 270, 297 y 327, incluyendo el denominado mutante de Fc “DANA” con la sustitución de residuos 265 y 297 en alanina (Patente
15 Estadounidense Nº 7.332.581).

Los anticuerpos IgG₄ presentan una afinidad de unión reducida a los receptores de Fc y funciones efectoras reducidas en comparación con los anticuerpos IgG₁. Por lo tanto, en algunas realizaciones el dominio Fc de las moléculas de unión a antígeno biespecíficas activadoras de células T de la
20 invención es un dominio Fc de IgG₄, en particular un dominio Fc de IgG₄ humana. En una realización el dominio Fc de IgG₄ comprende sustituciones de aminoácidos en la posición S228, específicamente la sustitución aminoacídica S228P. Para reducir aún más su afinidad de unión a un receptor de Fc y/o su función efectora, en una realización el dominio Fc de IgG₄ comprende una
25 sustitución aminoacídica en la posición L235, específicamente la sustitución aminoacídica L235E. En otra realización, el dominio Fc de IgG₄ comprende una sustitución aminoacídica en la posición P329, específicamente la sustitución

aminoacídica P329G. En una realización particular, el dominio Fc de IgG₄ comprende las sustituciones aminoacídicas en las posiciones S228, L235 y P329, específicamente las sustituciones aminoacídicas S228P, L235E y P329G. Dichos dominios mutantes de Fc y sus propiedades de unión al receptor de Fc_γ se describen en la solicitud de patente Europea nº PE 11160251.2, que se incorpora aquí por referencia en su totalidad.

b) Aumento de la unión al receptor de Fc y/o función efectora

Por contra, pueden haber situaciones en las que es deseable mantener o incluso aumentar la unión al receptor de Fc y/o funciones efectoras de inmunoconjugados, por ejemplo cuando el inmunoconjugado está dirigido hacia un antígeno tumoral altamente específico. Por lo tanto, en ciertas realizaciones el dominio Fc del inmunoconjugados de la invención está modificado por tener la afinidad de unión a un receptor de Fc aumentada. La afinidad de unión aumentada puede ser un aumento en la afinidad de unión del dominio Fc hacia el receptor de Fc en al menos 2 veces, al menos 5 veces, o al menos 10 veces. En una realización el receptor de Fc es un receptor de Fc activador. En una realización específica el receptor de Fc es un receptor de Fc_γ. En una realización el receptor de Fc está seleccionado entre el grupo de Fc_γRIIIa, Fc_γRI y Fc_γRIIa. En una realización particular el receptor de Fc es Fc_γRIIIa.

En una realización el dominio Fc está modificado para tener una estructura de oligosacárido alterada en comparación con un dominio Fc no modificado. En una realización particular el dominio Fc comprende una proporción aumentada de oligosacáridos no fucosilados, en comparación con un dominio Fc no modificado. En una realización más específica, al menos alrededor de un 20%, alrededor de un 25%, alrededor de un 30%, alrededor de un 35%, alrededor de un 40%, alrededor de un 45%, alrededor de un 50%, alrededor de un 55%, alrededor de un 60%, alrededor de un 65%, alrededor de

un 70%, alrededor de un 75%, alrededor de un 80%, alrededor de un 85%, alrededor de un 90%, alrededor de un 95%, o alrededor de un 100%, en particular al menos alrededor de un 50%, más en particular al menos alrededor de un 70%, de los oligosacáridos N-unidos en el dominio Fc del

5 inmunoconjugado no están fucosilados. Los oligosacáridos no fucosilados pueden ser del tipo híbrido o acomplejado. En otra realización específica el dominio Fc comprende una proporción aumentada de oligosacáridos bisectados, en comparación con un dominio Fc no modificado. En una realización más específica, al menos alrededor de un 10%, alrededor de un 15%, alrededor de

10 un 20%, alrededor de un 25%, alrededor de un 30%, alrededor de un 35%, alrededor de un 40%, alrededor de un 45%, alrededor de un 50%, alrededor de un 55%, alrededor de un 60%, alrededor de un 65%, alrededor de un 70%, alrededor de un 75%, alrededor de un 80%, alrededor de un 85%, alrededor de un 90%, alrededor de un 95%, o alrededor de un 100%, en particular al menos

15 alrededor de un 50%, más en particular al menos alrededor de un 70%, de los oligosacáridos N-unidos en el dominio Fc del inmunoconjugado están bisectados. Los oligosacáridos bisectados pueden ser del tipo híbrido o acomplejado. En aún otra realización específica el dominio Fc comprende una proporción aumentada de oligosacáridos no fucosilados bisectados, en

20 comparación con un dominio Fc no modificado. En una realización más específica, al menos alrededor de un 10%, alrededor de un 15%, alrededor de un 20%, alrededor de un 25%, alrededor de un 30%, alrededor de un 35%, alrededor de un 40%, alrededor de un 45%, alrededor de un 50%, alrededor de un 55%, alrededor de un 60%, alrededor de un 65%, alrededor de un 70%,

25 alrededor de un 75%, alrededor de un 80%, alrededor de un 85%, alrededor de un 90%, alrededor de un 95%, o alrededor de un 100%, en particular al menos alrededor de un 15%, más en particular al menos alrededor de un 25%, al menos alrededor de un 35% o al menos alrededor de un 50%, de los

oligosacáridos N-unidos en el dominio Fc del inmunoconjugado están bisectados, no fucosilados. Los oligosacáridos bisectados no fucosilados pueden ser del tipo híbrido o acomplejado.

Las estructuras de oligosacárido en el dominio Fc inmunoconjugado
5 pueden analizarse mediante métodos bien conocidos en la materia, por ejemplo, mediante espectrometría de masas MALDI TOF tal como se describe en Umana et al., Nat Biotechnol 17, 176-180 (1999) o Ferrara et al., Biotechn Bioeng 93, 851-861 (2006). El porcentaje de oligosacáridos no fucosilados es la cantidad de oligosacáridos que carecen de residuos de fucosa, en relación a todos los
10 oligosacáridos unidos a la Asn 297 (por ejemplo, estructuras en complejo, híbridas y de alta manosa) e identificadas en una muestra tratada con N-glucosidasa F mediante MALDI TOF MS. La Asn 297 se refiere al residuo de asparagina localizado alrededor de la posición 297 en el dominio Fc (numeración EU de los residuos de la región Fc); no obstante, la Asn297 puede
15 también estar localizada alrededor de ± 3 aminoácidos corriente arriba o corriente abajo de la posición 297, es decir, entre las posiciones 294 y 300, debido a una menor variación de las secuencias en las inmunoglobulinas. El porcentaje de oligosacáridos bisectados, o bisectados no fucosilados, se determina de forma análoga.

20 La modificación de la glucosilación en el dominio Fc del inmunoconjugado puede resultar de la producción del inmunoconjugado en una célula huésped que ha sido manipulada para expresar niveles alterados de uno o más polipéptidos con actividad glucosiltransferasa.

En una realización el dominio Fc del inmunoconjugado está modificado
25 para tener una estructura de oligosacárido alterada, en comparación con un dominio Fc no modificado, mediante la producción del inmunoconjugado en una célula huésped con actividad alterada de una o más glucosiltransferasa. Las

glucosiltransferasas incluye por ejemplo $\beta(1,4)$ -N-acetilglucosaminiltransferasa III (GnTIII), $\beta(1,4)$ -galactosiltransferasa (GalT), $\beta(1,2)$ -N-acetilglucosaminiltransferasa I (GnTI), $\beta(1,2)$ -N-acetilglucosaminiltransferasa II (GnTII) y $\alpha(1,6)$ -fucosiltransferasa. En una realización específica el dominio Fc del inmunconjugado está modificado para comprender una proporción aumentada de oligosacáridos no fucosilados, en comparación con un dominio Fc no modificado, mediante la producción del inmunconjugado en una célula huésped con actividad $\beta(1,4)$ -N-acetilglucosaminiltransferasa III (GnTIII) aumentada. En una realización aún más específica la célula huésped de forma adicional posee actividad α -manosidasa II (ManII) aumentada. La metodología de glucomodificación que puede utilizarse para glucomodificar los inmunconjugados de la presente invención se ha descrito en mayor detalle en Umana et al., Nat Biotechnol 17, 176-180 (1999); Ferrara et al., Biotechn Bioeng 93, 851-861 (2006); WO 99/54342 (Patente Estadounidense N° 6.602.684; PE 1071700); WO 2004/065540 (Solicitud de Patente Estadounidense N° 2004/0241817; PE 1587921), WO 03/011878 (Solicitud de Patente Estadounidense N° 2003/0175884), el contenido de cada una de ellas se incorpora aquí de forma expresa en su totalidad por referencia.

Generalmente, cualquier tipo de línea celular cultivada, incluyendo las líneas celulares discutidas en este documento, pueden utilizarse para generar líneas celulares para la producción de inmunconjugados con un patrón de glucosilación alterado. Las líneas celulares particulares incluye 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, y otras células de mamífero. En ciertas realizaciones, las células huésped se han manipulado para expresar niveles aumentados de uno o más polipéptidos que poseen actividad $\beta(1,4)$ -N-acetilglucosaminiltransferasa III (GnTIII). En ciertas realizaciones las células huésped se han manipulado además para expresar

niveles aumentados de uno o más polipéptidos que poseen actividad α -manosidasa II (ManII). En una realización específica, el polipéptido que posee actividad GnTIII es un polipéptido de fusión que comprende el dominio catalítico de GnTIII y el dominio de localización Golgi de un polipéptido heterólogo residente en Golgi. En particular, dicho dominio de localización Golgi es el dominio de localización en Golgi de la manosidasa II. Los métodos para generar dichos polipéptidos de fusión y su uso para producir anticuerpos con funciones efectoras aumentadas se describe en Ferrara et al., Biotechn Bioeng 93, 851-861 (2006) y WO 2004/065540, cuyo contenido se incorpora aquí por referencia de forma expresa en su totalidad.

Las células huésped que contienen una secuencia codificante de un inmunoconjugado de la invención y/o una secuencia codificante de un polipéptido que posee actividad glucosiltransferasa, y que expresa los productos génicos biológicamente activos, pueden identificarse por ejemplo, mediante hibridación DNA-DNA o DNA-RNA, la presencia o ausencia de funciones de gen "marcador", analizando el nivel de transcripción tal como se mide mediante la expresión de los correspondientes transcritos de mRNA en la célula huésped, o detección del producto génico tal como se mide mediante inmunoensayo o mediante su actividad biológica - métodos que son bien conocidos en la materia.

La actividad GnTIII o Man II puede detectarse por ejemplo, utilizando una lectina que se une a los productos biosintetizados de GnTIII o ManII, respectivamente. Un ejemplo de dicha lectina es la lectina E₄-PHA que se une preferentemente a oligosacáridos que contienen GlcNAc bisectada. Los productos de biosíntesis (es decir, estructuras de oligosacárido específicas) de polipéptidos que poseen actividad GnTIII o ManII pueden también detectarse mediante análisis por espectrometría de masas de los oligosacáridos liberados de las glucoproteínas producidas por células que expresan dichos polipéptidos. De forma alternativa, puede utilizarse un ensayo funcional que mide la función efectora aumentada

y/o la unión aumentada al receptor de Fc, mediada por los inmunoconjugados producidos por las células modificadas con el polipéptido que posee actividad GnTIII o ManII.

En otra realización el dominio Fc está modificado para contener una
 5 proporción aumentada de oligosacáridos no fucosilados, en comparación con un dominio Fc no modificado, mediante la producción del inmunoconjugado en una célula huésped que posee actividad $\alpha(1,6)$ -fucosiltransferasa disminuida. Una célula huésped con una actividad $\alpha(1,6)$ -fucosiltransferasa disminuida puede ser una célula en que el gen $\alpha(1,6)$ -fucosiltransferasa está interrumpido o de alguna
 10 otra manera desactivado, por ejemplo, eliminándolo (véase Yamane-Ohnuki et al., Biotech Bioeng 87, 614 (2004); Kanda et al., Biotechnol Bioeng 94(4), 680-688 (2006); Niwa et al., J Immunol Methods 306, 151-160 (2006)).

Otros ejemplos de líneas celulares capaces de producir inmunoconjugados desfucosilados incluye células CHO Lec13 deficientes en
 15 fucosilación de proteínas (Ripka et al., Arch Biochem Biophys 249, 533-545 (1986); Solicitud de Pat. Estadounidense N° 2003/0157108; y WO 2004/056312, especialmente en el Ejemplo 11). Los inmunoconjugados de la presente invención pueden modificarse de forma alternativa para tener residuos de fucosa reducidos en el dominio Fc de acuerdo con las técnicas descritas en la PE 1 176
 20 195 A1, WO 03/084570, WO 03/085119 y Solicitud de Pub. de Pat. Estadounidense N° 2003/0115614, 2004/093621, 2004/110282, 2004/110704, 2004/132140, Pat. Estadounidense N° 6.946.292 (Kyowa), por ejemplo, reduciendo o eliminando la actividad de una proteína transportadora de GDP-fucosa en las células huésped utilizadas para la producción de
 25 inmunoconjugados.

Los inmunoconjugados glucomodificados de la invención pueden también producirse en los sistemas de expresión que producen glucoproteínas

modificadas, como las mostradas en WO 2003/056914 (GlycoFi, Inc.) o en WO 2004/057002 y WO 2004/024927 (Greenovation).

En una realización el dominio Fc del inmunoconjugado está modificado por tener una función efectora aumentada, en comparación con un dominio Fc no modificado. La función efectora aumentada puede incluir, pero no se limita a, una o más de las siguientes: citotoxicidad dependiente del complemento aumentada (CDC), citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos aumentada (CCDA), fagocitosis celular dependiente de anticuerpo aumentada (FCDA), secreción de citoquinas aumentada, incorporación de antígeno mediado por inmunocomplejos aumentada por células presentadoras de antígeno, unión a células NK aumentada, unión a macrófagos aumentada, unión a monocitos aumentada, unión a células polimorfonucleares aumentada, apoptosis inducida por señalización directa aumentada, entrecruzamiento de anticuerpos unidos a diana aumentado, maduración de células dendríticas aumentada, o cebado de células T aumentada.

En una realización la función efectora aumentada es una o más seleccionadas del grupo de CDC aumentada, CCDA aumentada, FCDA aumentada, y secreción de citoquina aumentada. En una realización particular la función efectora aumentada es CCDA aumentada. En una realización la CCDA inducida por un dominio Fc modificado (o un inmunoconjugado que comprenden un dominio Fc modificado) está al menos 2 veces aumentada en comparación con la CCDA inducida por un dominio Fc no modificado (o un inmunoconjugado que comprende un dominio Fc no modificado).

Porciones efectoras

Las porciones efectoras para utilizar en la invención son generalmente polipéptidos que influyen en la actividad celular, por ejemplo, a través de las

5 rutas de transducción de señales. De este modo, la porción efectora del inmunconjugado útil en la invención puede asociarse con la señalización mediada por receptor que transmite una señal desde fuera de la membrana celular para modular una respuesta dentro de la célula. Por ejemplo, una porción efectora del inmunconjugado puede ser una citoquina. En realizaciones particulares la porción efectora es humana.

En ciertas realizaciones la porción efectora es una porción efectora de cadena única. En una realización particular la porción efectora es una citoquina. Ejemplos de citoquinas útiles incluye, pero no se limita a, GM-CSF, IL-1 α , IL-1 β ,
 10 IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-21, IFN- α , IFN- β , IFN- γ , MIP-1 α , MIP-1 β , TGF- β , TNF- α , y TNF- β . En una realización la porción efectora del inmunconjugado es una citoquina seleccionada a partir del grupo de GM-CSF, IL-2, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IL-21, IFN- α , IFN- γ , MIP-1 α , MIP-1 β y TGF- β . En una realización la porción efectora del inmunconjugado es una citoquina
 15 seleccionada a partir del grupo de IL-2, IL-7, IL-10, IL-12, IL-15, IFN- α , y IFN- γ . En ciertas realizaciones la porción efectora de citoquina está mutada para eliminar los sitios de N- y/o O-glucosilación. La eliminación de la glucosilación aumenta la homogeneidad del producto obtenible en la producción recombinante.

20 En una realización particular la porción efectora del inmunconjugado es IL-2. En una realización específica, la porción efectora de IL-2 puede provocar una o más de las respuestas celulares seleccionadas a partir del grupo que consiste en: proliferación en un linfocito T activado, la diferenciación en un linfocito T activado, actividad de célula T citotóxica (CTL), proliferación en un
 25 linfocito B activado, diferenciación en un linfocito B activado, proliferación en una célula natural killer (NK), diferenciación en una célula NK, secreción de citoquinas mediante una célula T activada o una célula NK, y citotoxicidad

antitumoral de célula killer activado por NK/linfocito (LAK). En otra realización particular la porción efectora de IL-2 es una porción efectora mutante de IL-2 que posee la afinidad de unión reducida a la subunidad α - del receptor de IL-2. Junto con las subunidades β y γ (también conocidas como CD122 y CD132, respectivamente), la subunidad α (también conocida como CD25) forma el receptor IL-2 heterotrimérico de alta afinidad, mientras que el receptor dimérico que consiste solo de las subunidades β y γ se denomina receptor de IL-2 de afinidad intermedia. Tal como se describe en la Solicitud de patente PCT número PDT/PE2012/051991, que se incorpora en este documento por referencia en su totalidad, un polipéptido mutante de IL-2 con la unión reducida a la subunidad α del receptor IL-2 posee una capacidad reducida para inducir la señalización de IL-2 en las células Y reguladoras, induce menos muerte celular inducida por activación (AICD) en células T, y posee un perfil una toxicidad reducida in vivo, en comparación con un polipéptido de IL-2 de tipo salvaje. La utilización de dicha porción efectora con toxicidad reducida es particularmente ventajosa en un inmunoconjugado de acuerdo con la invención, que posea una vida media larga en suero debido a la presencia de un dominio Fc. En una realización, la porción efectora IL-2 mutante del inmunoconjugado de acuerdo con la invención comprende al menos una mutación de aminoácido que reduce o elimina la afinidad de la porción efectora de IL-2 mutante hacia la subunidad α del receptor de IL-2 (CD25) pero conserva la afinidad de la porción efectora IL-2 mutante hacia el receptor IL-2 de afinidad intermedia (que consiste en las subunidades β y γ del receptor de IL-2), en comparación con la porción efectora de IL-2 no mutada. En una realización una o más mutaciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos. En una realización específica, la porción efectora de IL-2 mutante comprende una, dos o tres sustituciones de aminoácidos en una, dos o tres posiciones seleccionadas de la posiciones que corresponden a los residuos 42, 45, y 72 de IL-2 humana. En una realización

más específica, la porción efectora de IL-2 mutante comprende tres sustituciones de aminoácidos en las posiciones que corresponden a los residuos 42, 45 y 72 de IL-2 humana. En una realización incluso más específica, la porción efectora de IL-2 mutante es IL-2 humana que comprende las

5 sustituciones de aminoácido F42A, Y45A y L72G. En una realización la porción efectora de IL-2 mutante de forma adicional comprende una mutación de aminoácidos en una posición que corresponde a la posición 3 de IL-2 humana, que elimina el sitio de O-glucosilación de IL-2. En particular, dicha mutación de aminoácido adicional es una sustitución de aminoácidos que sustituye un

10 residuo de treonina por un residuo de alanina. Una porción efectora de IL-2 mutante adicional útil en la invención comprende cuatro sustituciones de aminoácidos en las posiciones que corresponden a los residuos 3, 42, 45 y 72 de IL-2 humana. Las sustituciones específicas de aminoácidos son T3A, F42A, Y45A y L72G. Tal como se demuestra en la Solicitud de patente PCT número

15 PDT/PE2012/051991 y en los ejemplos anexados, dicho polipéptido cuádruple mutante de IL-2 (IL-2 qm) no presenta una unión detectable a CD25, capacidad reducida de inducir la apoptosis en células T, capacidad reducida de inducir la señalización de IL-2 en células T_{reg}, y un perfil de toxicidad reducida in vivo. No obstante, retiene la capacidad de activar la señalización de IL-2 en células

20 efectoras, para inducir la proliferación de células efectoras, y para generar IFN- γ como una citoquina secundaria por células NK.

La porción efectora de IL-2 o IL-2 mutante de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores puede comprender mutaciones adicionales que proporcionan otras ventajas como la expresión o estabilidad aumentada. Por

25 ejemplo, la cisteína en la posición 125 puede estar sustituida con un aminoácido neutral como alanina, para evitar la formación de dímeros de IL-2 con puentes disulfuro. Así, en ciertas realizaciones la porción efectora de IL-2 o IL-2 mutante del inmunoconjugado de acuerdo con la invención comprende una mutación de

aminoácido adicional en la posición que corresponde al residuo 125 de IL-2 humana. En una realización dicha mutación de aminoácido adicional es la sustitución de aminoácidos C125A.

En una realización específica la porción efectora de IL-2 del
5 inmuoconjugado comprende la secuencia de polipéptido de Id. de Sec. N°: 2. En otra realización específica la porción efectora de IL-2 del inmuoconjugado comprende la secuencia de polipéptido de Id. de Sec. N°: 3.

En otra realización la porción efectora del inmuoconjugado es IL-12. En una realización específica dicha porción efectora de IL-12 es una porción
10 efectora de IL-12 de cadena única. En una realización aún más específica la porción efectora de IL-12 de cadena única comprende la secuencia de polipéptido de Id. de Sec. N°: 4. En una realización, la porción efectora de IL-12 puede provocar una o más respuestas celulares seleccionadas entre el grupo que consiste en: proliferación en una célula NK, diferenciación en una célula NK,
15 proliferación en una célula T, y diferenciación en una célula T.

En otra realización la porción efectora del inmuoconjugado es IL-10. En una realización específica dicha porción efectora de IL-10 es una porción efectora de IL-10 de cadena única. En una realización incluso más específica la porción efectora de IL-10 de cadena única comprende la secuencia de
20 polipéptido de Id. de Sec. N°: 5. En otra realización específica la porción efectora de IL-10 es una porción efectora de IL-10 monomérica. En una realización más específica la porción efectora de IL-10 monomérica comprende la secuencia de polipéptido de Id. de Sec. N°: 6. En una realización, la porción efectora de IL-10 puede provocar una o más respuestas celulares seleccionadas entre el grupo
25 que consiste en: inhibición de la secreción de citoquina, inhibición de la presentación de antígeno mediante células presentadoras de antígeno, reducción de la liberación de radicales de oxígeno, e inhibición de proliferación

de células T. Un inmunoconjugado de acuerdo con la invención en el que la porción efectora es IL-10 es particularmente útil para la regulación negativa de la inflamación, por ejemplo, en el tratamiento de un trastorno inflamatorio.

En otra realización la porción efectora del inmunoconjugado es IL-15. En una realización específica dicha porción efectora de IL-15 es una porción efectora de IL-15 mutante que posee afinidad de unión reducida hacia la subunidad α del receptor de IL-15. Sin desear estar ligado a la teoría, un polipéptido de IL-15 mutante con la unión reducida a la subunidad α del receptor de IL-15 posee una capacidad reducida de unirse a fibroblastos a través del organismo, que resulta en un perfil farmacocinético y toxicidad mejorado, en comparación con un polipéptido de IL-15 de tipo salvaje. El uso de una porción efectora con toxicidad reducida, como el mutante de IL-2 descrito y las porciones efectoras de IL-15 mutante, es particularmente ventajoso en un inmunoconjugado de acuerdo con la invención, con una vida media en suero larga debido a la presencia de un dominio Fc. En una realización la porción efectora de IL-15 mutante del inmunoconjugado de acuerdo con la invención comprende al menos una mutación de aminoácido que reduce o elimina la afinidad de la porción efectora de IL-15 mutante hacia la subunidad α del receptor de IL-15 pero conserva la afinidad de la porción efectora de IL-15 mutante hacia el de receptor de IL-15/IL-2 de afinidad intermedia (que comprende las subunidades β y γ del receptor IL-15/IL-2), en comparación con la porción efectora de IL-15 no mutada. En una realización la mutación de aminoácidos es una sustitución de aminoácidos. En una realización específica, la porción efectora de IL-15 mutante comprende una sustitución de aminoácidos en la posición que corresponde al residuo 53 de IL-15 humana. En una realización más específica, la porción efectora de IL-15 mutante es IL-15 humana que comprende la sustitución de aminoácidos E53A. En una realización la porción efectora de IL-15 mutante de forma adicional comprende una

mutación de aminoácidos en la posición que corresponde a la posición 79 de IL-15 humana, que elimina el lugar de N-glucosilación de IL-15. Particularmente, dicha mutación de aminoácidos adicional es una sustitución de aminoácidos que sustituye un residuo de asparagina por un residuo de alanina. En una realización

5 incluso más específica la porción efectora de IL-15 comprende la secuencia de polipéptido de Id. de Sec. N°: 7. En una realización, la porción efectora de IL-15 puede provocar una o más respuestas celulares seleccionadas entre el grupo que consiste en: proliferación en un linfocito T activado, diferenciación en un linfocito T activado, actividad citotóxica de células T (CTL), proliferación en una

10 célula B activada, diferenciación en una célula B activada, proliferación en una célula natural killer (NK), diferenciación en una célula NK, secreción de citoquina por una célula T activada o una célula NK, y citotoxicidad antitumoral de células killer activada por NK/linfocito (LAK).

Las moléculas de citoquina mutantes útiles como porciones efectoras en

15 los inmunoconjugados pueden prepararse mediante delección, sustitución, inserción o modificación utilizando métodos genéticos o químicos bien conocidos en la materia. Los métodos genéticos pueden incluir mutagénesis específica de sitio de la secuencia de DNA codificante, PCR, síntesis génica, y similares. Los cambios de nucleótido correctos pueden verificarse por ejemplo mediante

20 secuenciación. La sustitución o inserción puede implicar residuos de aminoácido tanto naturales como no naturales. La modificación de aminoácido incluye métodos bien conocidos de modificaciones químicas como la adición o eliminación de los sitios de glucosilación o unión de carbohidratos, y similares.

En una realización, la porción efectora, particularmente una porción

25 efectora de cadena sencilla, del inmunoconjugado es GM-CSF. En una realización específica, la porción efectora de GM-CSF puede provocar proliferación y/o diferenciación en un granulocito, un monocito o una célula

dendrítica. En una realización, la porción efectora, particularmente una porción efectora de cadena sencilla, del inmunoconjugado es IFN- α . En una realización específica, la porción efectora de IFN- α puede provocar una o más respuestas celulares seleccionadas entre el grupo que consiste en: inhibición de la replicación viral en una célula infectada por un virus, y sobrerregulación de la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad I (MHC I). En otra realización específica, la porción efectora de IFN- α puede inhibir la proliferación en una célula tumoral. En una realización la porción efectora, particularmente una porción efectora de cadena sencilla, del inmunoconjugado es IFN- γ . En una realización específica, la porción efectora de IFN- γ puede provocar una o más de las respuestas celulares seleccionadas entre el grupo que consiste en: actividad de macrófagos aumentada, expresión aumentada de moléculas MHC, y actividad aumentada de células NK. En una realización la porción efectora, particularmente una porción efectora de cadena sencilla, del inmunoconjugado es IL-7. En una realización específica, la porción efectora de IL-7 puede provocar proliferación de linfocitos T y/o B. En una realización, la porción efectora, particularmente una porción efectora de cadena sencilla, del inmunoconjugado es IL-8. En una realización específica, la porción efectora de IL-8 puede provocar quimiotaxis en neutrófilos. En una realización, la porción efectora, particularmente una porción efectora de cadena sencilla, del inmunoconjugado, es MIP-1 α . En una realización específica, la porción efectora de MIP-1 α puede provocar quimiotaxis en monocitos y linfocitos T. En una realización, la porción efectora, particularmente una porción efectora de cadena sencilla, del inmunoconjugado es MIP-1 β . En una realización específica, la porción efectora de MIP-1 β puede provocar quimiotaxis en monocitos y linfocitos T. En una realización, la porción efectora, particularmente una porción efectora de cadena sencilla, del inmunoconjugado es TGF- β . En una realización específica, la porción efectora de TGF- β puede provocar una o más respuestas

celulares seleccionadas entre el grupo que consiste en: quimiotaxis en monocitos, quimiotaxis en macrófagos, sobrerregulación de la expresión de IL-1 en los macrófagos activados, y sobrerregulación de la expresión de IgA en células B activadas.

- 5 En una realización, el inmunoconjugado de la invención se une a un receptor de la porción efectora con una constante de disociación (K_D) que es al menos alrededor de 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 o 10 veces superior a la de la porción efectora control. En otra realización, el inmunoconjugado se une a un receptor de la porción efectora con una K_D que es
- 10 al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10 veces superior a la que corresponde a la molécula de inmunoconjugado que comprende dos o más porciones efectoras. En otra realización, el inmunoconjugado se une a un receptor de la porción efectora con una constante de disociación K_D que es alrededor de 10 veces superior a la que corresponde a la molécula de inmunoconjugado que
- 15 comprenden dos o más porciones efectoras.

Porciones de unión a antígeno

- Los inmunoconjugados de la invención comprenden al menos una porción de unión a antígeno. En realizaciones particulares, los inmunoconjugados comprenden dos porciones de unión a antígeno, es decir, una primera y una
- 20 segunda porción de unión a antígeno. En una realización el inmunoconjugado comprende no más de dos porciones de unión a antígeno.

- La porción de unión a antígeno del inmunoconjugado de la invención es generalmente una molécula de polipéptido que se une a un determinante antigénico específico y es capaz de dirigir la entidad a la que está unido (por
- 25 ejemplo, una porción efectora y un dominio Fc) hacia una diana, por ejemplo hacia un tipo específico de célula tumoral o estroma tumoral portador del

determinante antigénico. El inmunoconjugado puede unirse a determinantes antigénicos que se encuentran, por ejemplo, en las superficies de células tumorales, en las superficies de células infectadas por virus, en las superficies de otras células enfermas, libres en el suero sanguíneo, y/o en la matriz
5 extracelular (ECM).

En ciertas realizaciones la porción de unión a antígeno está dirigida hacia un antígeno asociado con una condición patológica, como un antígeno presentado sobre una célula tumoral o un ambiente de célula tumoral, en un lugar de inflamación, o sobre una célula infectada por virus.

10 Ejemplos no limitantes de antígenos tumorales incluye MAGE, MART-1/Melan-A, gp100, dipeptidil peptidasa IV (DPPIV), proteína de unión a adenosina desaminasa (ADAbp), ciclofilina b, antígeno asociado a cáncer colorectal (CRC)-C017-1A/GA733, antígeno carcinoembrionario(CEA) y sus
15 epítomos inmunogénicos CAP-1 y CAP-2, etv6, aml1, antígeno específico de la próstata (PSA) y sus epítomos inmunogénicos PSA-1, PSA-2, y PSA-3, antígeno de membrana específico de próstata (PSMA), 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),
20 MAGE-C1, MAGE-C2, MAGE-C3, MAGE-C4, MAGE-C5), familia GAGE de antígenos tumorales (por ejemplo, GAGE-1, GAGE-2, GAGE-3, GAGE-4, GAGE-5, GAGE-6, GAGE-7, GAGE-8, GAGE-9), BAGE, RAGE, LAGE-1, NAG, GnT-V, MUM-1, CDK4, tirosinasa, p53, familia MUC, HER2/neu, p21ras, RCAS1, α -fetoproteína, E-cadherina, α -catenina, β -catenina y γ -catenina,
25 p120ctn, gp100 Pmel117, PRAME, NY-ESO-1, cdc27, proteína adenomatous polyposis coli (APC), fodrina, conexina 37, idiotipo Ig, p15, gp75, gangliósidos GM2 y GD2, productos virales como las proteínas del virus del papiloma

humano, familia Smad de antígenos tumorales, Imp-1, P1A, antígeno nuclear codificado por EBV (EBNA)-1, fosforilasa del glucógeno cerebral, SSX-1, SSX-2 (HOM-MEL-40), SSX-1, SSX-4, SSX-5, SCP-1 y CT-7, y c-erbB-2.

Ejemplos no limitantes de antígenos virales incluye la hemaglutinina del virus de la gripe, LMP-1 del virus Epstein-Barr, glucoproteína E2 del virus de la hepatitis C, gp160 del VIH, y gp120 del VIH.

Ejemplos no limitantes de antígenos ECM incluye sindecano, heparanasa, integrinas, osteopontina, link, cadherinas, laminina, EGF de tipo laminina, lectina, fibronectina, notch, tenascina, y matrixina.

Los inmunoconjugados de la invención pueden unirse a los siguientes Ejemplos específicos no limitantes de antígenos de superficie celular: FAP, Her2, EGFR, IGF-1R, CD22 (receptor de células B), CD23 (receptor de IgE de baja afinidad), CD30 (receptor de citoquina), CD33 (antígeno de superficie celular mieloide), CD40 (receptor del factor de necrosis tumoral), IL-6R (receptor de IL6), CD20, MCSP, y PDGFβR (receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas β). En realizaciones particulares el antígeno es un antígeno humano.

En ciertas realizaciones la porción de unión a antígeno está dirigida a un antígeno presentado sobre una célula tumoral o en un ambiente de célula tumoral. En otras realizaciones la porción de unión a antígeno está dirigida a un antígeno presentado en un lugar de inflamación. En una realización específica la porción de unión a antígeno está dirigida a un antígeno seleccionado a partir del grupo de Proteína de Activación de Fibroblastos (FAP), el dominio A1 de Tenascina-C (TNC A1), el dominio A2 de Tenascina-C (TNC A2), el Extra Dominio B de la Fibronectina (EDB), antígeno carcinoembrionario (CEA), y el proteoglicano de condroitin sulfato asociado a melanoma (MCSP).

En una realización, el inmunoconjugado de la invención comprende dos o más porciones de unión a antígeno, en las que cada una de estas porciones de unión a antígeno específicamente se unen al mismo determinante antigénico.

La porción de unión a antígeno puede ser cualquier tipo de anticuerpo o
 5 fragmento de los mismos que retiene la unión específica a un determinante antigénico. El fragmento de anticuerpos incluye, pero no se limita a, fragmentos V_H , fragmentos V_L , fragmentos Fab, fragmentos $F(ab')_2$, fragmentos scFv, fragmentos Fv, minianticuerpos, diacuerpos, triacuerpos, y tetracuerpos (véase por ejemplo, Hudson y Souriau, Nature Med 9, 129-134 (2003)). En una
 10 realización particular la porción de unión a antígeno es una molécula Fab. En una realización dicha molécula Fab es humana. En otra realización dicha molécula Fab está humanizada. En aún otra realización dicha molécula Fab comprende las regiones constantes de la cadena pesada y ligera humana.

En una realización el inmunoconjugado comprende al menos una,
 15 normalmente dos o más porciones de unión a antígeno que son específicas para el Extra Dominio B de la fibronectina (EDB). En otra realización el inmunoconjugado comprende al menos una, normalmente dos o más porciones de unión a antígeno que puede competir con el anticuerpo monoclonal L19 por la unión a un epítipo de EDB. Véase, por ejemplo, publicación PCT WO
 20 2007/128563 A1 (incorporada en este documento por referencia en su totalidad).

En aún otra realización el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptidos en las que una cadena pesada Fab derivada del monoclonal anticuerpo L19 comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación en botón, que a su
 25 vez comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con un polipéptido de IL-2. En una realización más específica el inmunoconjugado comprende la secuencia de polipéptido de Id. de Sec. N°: 215 o una variante de los mismos que retiene la

funcionalidad. En una realización el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido en el que una cadena pesada Fab derivada del anticuerpo monoclonal L19 comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación en ojal. En una
5 realización más específica el inmunoconjugado comprende la secuencia de polipéptido de Id. de Sec. N°: 213 o una variante de las mismos que retiene la funcionalidad. En otra realización el inmunoconjugado comprende una cadena ligera de Fab derivada del anticuerpo monoclonal L19. En una realización más específica el inmunoconjugado comprende la secuencia de polipéptido de Id. de
10 Sec. N°: 217 o una variante de las mismos que retiene la funcionalidad. En aún otra realización el inmunoconjugado comprende las secuencias de polipéptido de Id. de Sec. N°: 213, Id. de Sec. N°: 215 e Id. de Sec. N°: 217, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En otra realización específica los polipéptidos están unidos de forma covalente, por ejemplo, por un enlace
15 disulfuro. En algunas realizaciones las subunidades del dominio Fc comprenden cada una las sustituciones de aminoácido L234A, L235A, y P329G.

En una realización específica el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o
20 99% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 216. En otra realización específica el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por la secuencia de polinucleótido de Id. de Sec. N°: 216. En otra realización específica el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos
25 alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 214. En aún otra realización específica el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por la secuencia de polinucleótido de Id. de Sec. N°: 214. En otra realización específica el

inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 218. En aún otra realización específica el inmunoconjugado comprende una

5 secuencia de polipéptido codificada por la secuencia de polinucleótido de Id. de Sec. N°: 218.

En una realización el inmunoconjugado de la invención comprende al menos una, normalmente dos o más porciones de unión a antígeno que son específicas para el dominio A1 de Tenascina C (TNC-A1). En otra realización, el

10 inmunoconjugado comprende al menos una, normalmente dos o más porciones de unión a antígeno que pueden competir con el anticuerpo monoclonal F16 por la unión a un epítipo de TNC-A1. Véase, por ejemplo, la publicación PCT WO 2007/128563 A1 (incorporada en este documento por referencia en su totalidad). En una realización, el inmunoconjugado comprende al menos una, normalmente

15 dos o más porciones de unión a antígeno que son específicas para el dominio A1 y/o A4 de Tenascina C (TNC-A1 o TNC-A4 o TNC-A1/A4).

En una realización específica, las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de la región variable de cadena pesada que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%,

20 96%, 97%, 98%, 99% o 100% a cualquiera de Id. de Sec. N°: 33 o Id. de Sec. N°: 35, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En otra realización específica, las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de la región variable de cadena ligera que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%,

25 99% o 100% a cualquiera de Id. de Sec. N°: 29 o Id. de Sec. N°: 31, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En una realización más específica, las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una

secuencia de la región variable de la cadena pesada que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% a cualquiera de Id. de Sec. N°: 33 o Id. de Sec. N°: 35 o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad, y una secuencia de la región variable de cadena

5 ligera que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% a cualquiera de Id. de Sec. N°: 29 o Id. de Sec. N°: 31 o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad.

En otra realización específica, la secuencia de la región variable de la cadena pesada de las porciones de unión a antígeno del inmunconjugado

10 están codificadas por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a cualquiera de Id. de Sec. N°: 34 o Id. de Sec. N°: 36. En aún otra realización específica, la secuencia de la región variable de cadena pesada de las porciones de unión a antígeno del inmunconjugado está codificada por la

15 secuencia de polinucleótido de cualquiera de Id. de Sec. N°: 34 o Id. de Sec. N°: 36. En otra realización específica, la secuencia de la región variable de cadena ligera de las porciones de unión a antígeno del inmunconjugado está codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a cualquiera de Id. de Sec.

20 N°: 30 o Id. de Sec. N°: 32. En aún otra realización específica, la secuencia de la región variable de cadena ligera de las porciones de unión a antígeno del inmunconjugado está codificada por la secuencia de polinucleótido de cualquiera de Id. de Sec. N°: 30 o Id. de Sec. N°: 32.

En una realización, el inmunconjugado comprende una secuencia de

25 polipéptido en la que una cadena pesada Fab específica para el dominio A1 de Tenascina C comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación en botón, que a su

vez comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con un polipéptido IL-2. En otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido en el que una cadena pesada Fab específica para el dominio A1 de Tenascina C comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio

5 Fc que comprende una modificación en ojal. En una realización más específica el inmunoconjugado comprende ambas secuencias de polipéptido. En otra realización, el inmunoconjugado comprende además una cadena ligera de Fab específica para el dominio A1 de Tenascina C. En otra realización específica, los polipéptidos están unidos de forma covalente, por ejemplo, por un enlace

10 disulfuro. En algunas realizaciones las subunidades del dominio Fc comprenden cada una las sustituciones de aminoácido L234A, L235A, y P329G.

En una realización particular, el inmunoconjugado comprende al menos una, normalmente dos o más porciones de unión a antígeno que son específicas para el dominio A2 de Tenascina C (TNC-A2). En una realización específica, las

15 porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprende una secuencia de la región variable de cadena pesada que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% a una secuencia seleccionada entre el grupo de Id. de Sec. N°: 27, Id. de Sec. N°: 159, Id. de Sec. N°: 163, Id. de Sec. N°: 167, Id. de Sec. N°: 171, Id. de Sec. N°: 175, Id. de

20 Sec. N°: 179, Id. de Sec. N°: 183 e Id. de Sec. N°: 187, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En otra realización específica, las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de la región variable de la cadena ligera que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% a una secuencia

25 seleccionada entre el grupo de Id. de Sec. N°: 23, Id. de Sec. N°: 25; Id. de Sec. N°: 157, Id. de Sec. N°: 161, Id. de Sec. N°: 165, Id. de Sec. N°: 169, Id. de Sec. N°: 173, Id. de Sec. N°: 177, Id. de Sec. N°: 181 e Id. de Sec. N°: 185, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En una realización más

específica, las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de la región variable de la cadena pesada que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% a una secuencia seleccionada entre el grupo de Id. de Sec. N°: 27, Id. de Sec. N°: 159, Id. de Sec. N°: 163, Id. de Sec. N°: 167, Id. de Sec. N°: 171, Id. de Sec. N°: 175, Id. de Sec. N°: 179, Id. de Sec. N°: 183 e Id. de Sec. N°: 187, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad, y una secuencia de la región variable de la cadena ligera que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% a una secuencia seleccionada entre el grupo de Id. de Sec. N°: 23, Id. de Sec. N°: 25; Id. de Sec. N°: 157, Id. de Sec. N°: 161, Id. de Sec. N°: 165, Id. de Sec. N°: 169, Id. de Sec. N°: 173, Id. de Sec. N°: 177, Id. de Sec. N°: 181 e Id. de Sec. N°: 185, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En una realización particular, las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprende la secuencia de la región variable de la cadena pesada de Id. de Sec. N°: 27 y la secuencia de la región variable de la cadena ligera de Id. de Sec. N°: 25.

En otra realización específica, la región variable de la secuencia de cadena pesada de las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado está codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a una secuencia seleccionada entre el grupo de Id. de Sec. N°: 28, Id. de Sec. N°: 160, Id. de Sec. N°: 164, Id. de Sec. N°: 168, Id. de Sec. N°: 172, Id. de Sec. N°: 176, Id. de Sec. N°: 180, Id. de Sec. N°: 184 e Id. de Sec. N°: 188. En aún otra realización específica, la secuencia de la región variable de la cadena pesada de las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado está codificada por una secuencia de polinucleótido seleccionada entre el grupo de Id. de Sec. N°: 28, Id. de Sec. N°: 160, Id. de Sec. N°: 164, Id. de Sec. N°: 168, Id. de Sec. N°: 172, Id. de Sec. N°: 176, Id. de Sec. N°: 180, Id. de Sec. N°: 184 e Id. de Sec. N°:

188. En otra realización específica, la secuencia de la región variable de la cadena ligera de las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado está codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a una secuencia

5 seleccionada entre el grupo de Id. de Sec. N°: 24, Id. de Sec. N°: 26, Id. de Sec. N°: 158, Id. de Sec. N°: 162, Id. de Sec. N°: 166, Id. de Sec. N°: 170, Id. de Sec. N°: 174, Id. de Sec. N°: 178, Id. de Sec. N°: 182 e Id. de Sec. N°: 186. En aún otra realización específica, la secuencia de la región variable de la cadena ligera de las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado está codificada por

10 una secuencia de polinucleótido seleccionada entre el grupo de Id. de Sec. N°: 24, Id. de Sec. N°: 26, Id. de Sec. N°: 158, Id. de Sec. N°: 162, Id. de Sec. N°: 166, Id. de Sec. N°: 170, Id. de Sec. N°: 174, Id. de Sec. N°: 178, Id. de Sec. N°: 182 e Id. de Sec. N°: 186.

En aún otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia

15 de polipéptido en el que una cadena pesada de Fab específica para el dominio A2 de Tenascina C comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc que comprenden una modificación en ojal, que a su vez comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con un polipéptido IL-10. En una realización más específica, el inmunoconjugado comprende la secuencia de

20 polipéptido de Id. de Sec. N°: 235 o Id. de Sec. N°: 237, o una variante de los mismos que retiene la funcionalidad. En una realización el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido en el que una cadena pesada Fab específica para el dominio A2 de Tenascina C comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una

25 modificación en botón. En una realización más específica, el inmunoconjugado comprende la secuencia de polipéptido de Id. de Sec. N°: 233 o una variante de los mismos que retiene la funcionalidad. En otra realización, el inmunoconjugado comprende una cadena ligera de Fab específico para el dominio A2 de

Tenascina C. En una realización más específica, el inmunoconjugado comprende la secuencia de polipéptido de Id. de Sec. N°: 239 o una variante de las mismas que retiene la funcionalidad. En otra realización, el inmunoconjugado comprende las secuencias de polipéptido de Id. de Sec. N°: 233, Id. de Sec. N°: 235 e Id. de Sec. N°: 239 o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En aún otra realización, el inmunoconjugado comprende las secuencias de polipéptido de Id. de Sec. N°: 233, Id. de Sec. N°: 237 e Id. de Sec. N°: 239 o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En otra realización específica, los polipéptidos están unidos de forma covalente, por ejemplo, por un enlace disulfuro. En algunas realizaciones las subunidades del dominio Fc comprenden cada una las sustituciones de aminoácido L234A, L235A, y P329G.

En una realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 236 o Id. de Sec. N°: 238. En otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por la secuencia de polinucleótido de Id. de Sec. N°: 236 o Id. de Sec. N°: 238. En otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 234. En aún otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por la secuencia de polinucleótido de Id. de Sec. N°: 234. En otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 240. En aún otra realización específica, el

inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por la secuencia de polinucleótido de Id. de Sec. N°: 240.

En aún otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido en el que una cadena pesada de Fab específica para el dominio A2 de Tenascina C comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación en botón, que a su vez comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con un polipéptido IL-2. En una realización más específica, el inmunoconjugado comprende la secuencia de polipéptido de Id. de Sec. N°: 285, o una variante de la misma que retiene la funcionalidad. En una realización el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido en el que una cadena pesada Fab específica para el dominio A2 de Tenascina C comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación en ojal. En una realización más específica, el inmunoconjugado comprende la secuencia de polipéptido de Id. de Sec. N°: 287 o una variante de la misma que retiene la funcionalidad. En otra realización, el inmunoconjugado comprende una cadena ligera de Fab específica para el dominio A2 de Tenascina C. En una realización más específica, el inmunoconjugado comprende la secuencia de polipéptido de Id. de Sec. N°: 239 o una variante de la misma que retiene la funcionalidad. En otra realización, el inmunoconjugado comprende las secuencias de polipéptido de Id. de Sec. N°: 285, Id. de Sec. N°: 287 e Id. de Sec. N°: 239 o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En otra realización específica, los polipéptidos están unidos de forma covalente, por ejemplo, por un enlace disulfuro. En algunas realizaciones las subunidades del dominio Fc comprenden cada una las sustituciones de aminoácido L234A, L235A, y P329G.

En una realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por una secuencia de polinucleótido que es

idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 286. En otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por la secuencia de polinucleótido de Id. de Sec. N°: 286. En otra realización

5 específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 288. En otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por una secuencia de

10 polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 240. En aún otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por la secuencia de polinucleótido de Id. de Sec. N°: 240.

En una realización particular, el inmunoconjugado comprende al menos

15 una, normalmente dos o más porciones de unión a antígeno que son específicas para la Proteína Activada por Fibroblasto (FAP). En una realización específica, las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de la región variable de la cadena pesada que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% a

20 una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en Id. de Sec. N°: 41, Id. de Sec. N°: 45, Id. de Sec. N°: 47, Id. de Sec. N°: 51, Id. de Sec. N°: 55, Id. de Sec. N°: 59, Id. de Sec. N°: 63, Id. de Sec. N°: 67, Id. de Sec. N°: 71, Id. de Sec. N°: 75, Id. de Sec. N°: 79, Id. de Sec. N°: 83, Id. de Sec. N°: 87, Id. de Sec. N°: 91, Id. de Sec. N°: 95, Id. de Sec. N°: 99, Id. de Sec. N°: 103, Id. de Sec. N°:

25 107, Id. de Sec. N°: 111, Id. de Sec. N°: 115, Id. de Sec. N°: 119, Id. de Sec. N°: 123, Id. de Sec. N°: 127, Id. de Sec. N°: 131, Id. de Sec. N°: 135, Id. de Sec. N°: 139, Id. de Sec. N°: 143, Id. de Sec. N°: 147, Id. de Sec. N°: 151 e Id. de Sec. N°: 155, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En otra

realización específica, las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de la región variable de la cadena ligera que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% a una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en: Id. de Sec. N°: 37, Id. de Sec. N°: 39, Id. de Sec. N°: 43, Id. de Sec. N°: 49, Id. de Sec. N°: 53, Id. de Sec. N°: 57, Id. de Sec. N°: 61, Id. de Sec. N°: 65, Id. de Sec. N°: 69, Id. de Sec. N°: 73, Id. de Sec. N°: 77, Id. de Sec. N°: 81, Id. de Sec. N°: 85, Id. de Sec. N°: 89, Id. de Sec. N°: 93, Id. de Sec. N°: 97, Id. de Sec. N°: 101, Id. de Sec. N°: 105, Id. de Sec. N°: 109, Id. de Sec. N°: 113, Id. de Sec. N°: 117, Id. de Sec. N°: 121, Id. de Sec. N°: 125, Id. de Sec. N°: 129, Id. de Sec. N°: 133, Id. de Sec. N°: 137, Id. de Sec. N°: 141, Id. de Sec. N°: 145, Id. de Sec. N°: 149 e Id. de Sec. N°: 153, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad.

En una realización más específica, las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de la región variable de la cadena pesada que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% a una secuencia seleccionada de entre el grupo que consiste en Id. de Sec. N°: 41, Id. de Sec. N°: 45, Id. de Sec. N°: 47, Id. de Sec. N°: 51, Id. de Sec. N°: 55, Id. de Sec. N°: 59, Id. de Sec. N°: 63, Id. de Sec. N°: 67, Id. de Sec. N°: 71, Id. de Sec. N°: 75, Id. de Sec. N°: 79, Id. de Sec. N°: 83, Id. de Sec. N°: 87, Id. de Sec. N°: 91, Id. de Sec. N°: 95, Id. de Sec. N°: 99, Id. de Sec. N°: 103, Id. de Sec. N°: 107, Id. de Sec. N°: 111, Id. de Sec. N°: 115, Id. de Sec. N°: 119, Id. de Sec. N°: 123, Id. de Sec. N°: 127, Id. de Sec. N°: 131, Id. de Sec. N°: 135, Id. de Sec. N°: 139, Id. de Sec. N°: 143, Id. de Sec. N°: 147, Id. de Sec. N°: 151 e Id. de Sec. N°: 155, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad, y una secuencia de la región variable de la cadena ligera que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% a una secuencia seleccionada de entre el grupo que consiste en: Id. de Sec. N°: 37, Id. de Sec. N°: 39, Id. de Sec. N°: 43, Id. de Sec. N°: 49, Id.

de Sec. N°: 53, Id. de Sec. N°: 57, Id. de Sec. N°: 61, Id. de Sec. N°: 65, Id. de Sec. N°: 69, Id. de Sec. N°: 73, Id. de Sec. N°: 77, Id. de Sec. N°: 81, Id. de Sec. N°: 85, Id. de Sec. N°: 89, Id. de Sec. N°: 93, Id. de Sec. N°: 97, Id. de Sec. N°: 101, Id. de Sec. N°: 105, Id. de Sec. N°: 109, Id. de Sec. N°: 113, Id. de Sec. N°: 117, Id. de Sec. N°: 121, Id. de Sec. N°: 125, Id. de Sec. N°: 129, Id. de Sec. N°: 133, Id. de Sec. N°: 137, Id. de Sec. N°: 141, Id. de Sec. N°: 145, Id. de Sec. N°: 149 e Id. de Sec. N°: 153, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En una realización particular, las porciones de unión a antígeno del immunoconjugado comprenden la secuencia de la región variable de la cadena pesada de Id. de Sec. N°: 111 y la secuencia de la región variable de la cadena ligera de Id. de Sec. N°: 109. En otra realización particular, las porciones de unión a antígeno del immunoconjugado comprenden la secuencia de la región variable de la cadena pesada de Id. de Sec. N°: 143 y la secuencia de la región variable de la cadena ligera de Id. de Sec. N°: 141. En aún otra realización particular, las porciones de unión a antígeno del immunoconjugado comprenden la secuencia de la región variable de la cadena pesada de Id. de Sec. N°: 51 y la secuencia de la región variable de la cadena ligera de Id. de Sec. N°: 49.

En otra realización específica, la secuencia de la región variable de la cadena pesada de las porciones de unión a antígeno del immunoconjugado está codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a una secuencia seleccionada de entre el grupo que consiste en: Id. de Sec. N°: 42, Id. de Sec. N°: 46, Id. de Sec. N°: 48, Id. de Sec. N°: 52, Id. de Sec. N°: 56, Id. de Sec. N°: 60, Id. de Sec. N°: 64, Id. de Sec. N°: 68, Id. de Sec. N°: 72, Id. de Sec. N°: 76, Id. de Sec. N°: 80, Id. de Sec. N°: 84, Id. de Sec. N°: 88, Id. de Sec. N°: 92, Id. de Sec. N°: 96, Id. de Sec. N°: 100, Id. de Sec. N°: 104, Id. de Sec. N°: 108, Id. de Sec. N°: 112, Id. de Sec. N°: 116, Id. de Sec. N°: 120, Id. de Sec. N°: 124, Id. de Sec. N°: 128, Id. de Sec. N°: 132, Id. de Sec. N°: 136, Id. de Sec. N°: 140, Id.

de Sec. N°: 144, Id. de Sec. N°: 148, Id. de Sec. N°: 152, e Id. de Sec. N°: 156. En aún otra realización específica, la secuencia de la región variable de la cadena pesada de las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado está codificada por una secuencia de polinucleótido seleccionada de entre el grupo

5 que consiste en: Id. de Sec. N°: 42, Id. de Sec. N°: 46, Id. de Sec. N°: 48, Id. de Sec. N°: 52, Id. de Sec. N°: 56, Id. de Sec. N°: 60, Id. de Sec. N°: 64, Id. de Sec. N°: 68, Id. de Sec. N°: 72, Id. de Sec. N°: 76, Id. de Sec. N°: 80, Id. de Sec. N°: 84, Id. de Sec. N°: 88, Id. de Sec. N°: 92, Id. de Sec. N°: 96, Id. de Sec. N°: 100, Id. de Sec. N°: 104, Id. de Sec. N°: 108, Id. de Sec. N°: 112, Id. de Sec. N°: 116,

10 Id. de Sec. N°: 120, Id. de Sec. N°: 124, Id. de Sec. N°: 128, Id. de Sec. N°: 132, Id. de Sec. N°: 136, Id. de Sec. N°: 140, Id. de Sec. N°: 144, Id. de Sec. N°: 148, Id. de Sec. N°: 152, e Id. de Sec. N°: 156. En otra realización específica, la secuencia de la región variable de la cadena ligera de las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado está codificada por una secuencia de

15 polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a la secuencia seleccionada de entre el grupo que consiste en: Id. de Sec. N°: 38, Id. de Sec. N°: 40, Id. de Sec. N°: 44, Id. de Sec. N°: 50, Id. de Sec. N°: 54, Id. de Sec. N°: 58, Id. de Sec. N°: 62, Id. de Sec. N°: 66, Id. de Sec. N°: 70, Id. de Sec. N°: 74, Id. de Sec. N°: 78, Id. de Sec. N°: 82,

20 Id. de Sec. N°: 86, Id. de Sec. N°: 90, Id. de Sec. N°: 94, Id. de Sec. N°: 98, Id. de Sec. N°: 102, Id. de Sec. N°: 106, Id. de Sec. N°: 110, Id. de Sec. N°: 114, Id. de Sec. N°: 118, Id. de Sec. N°: 122, Id. de Sec. N°: 126, Id. de Sec. N°: 130, Id. de Sec. N°: 134, Id. de Sec. N°: 138, Id. de Sec. N°: 142, Id. de Sec. N°: 146, Id. de Sec. N°: 150, e Id. de Sec. N°: 154. En aún otra realización específica, la

25 secuencia de la región variable de la cadena ligera de las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado está codificada por una secuencia de polinucleótido seleccionada de entre el grupo que consiste en: Id. de Sec. N°: 38, Id. de Sec. N°: 40, Id. de Sec. N°: 44, Id. de Sec. N°: 50, Id. de Sec. N°: 54,

Id. de Sec. N°: 58, Id. de Sec. N°: 62, Id. de Sec. N°: 66, Id. de Sec. N°: 70, Id. de Sec. N°: 74, Id. de Sec. N°: 78, Id. de Sec. N°: 82, Id. de Sec. N°: 86, Id. de Sec. N°: 90, Id. de Sec. N°: 94, Id. de Sec. N°: 98, Id. de Sec. N°: 102, Id. de Sec. N°: 106, Id. de Sec. N°: 110, Id. de Sec. N°: 114, Id. de Sec. N°: 118, Id. de
 5 Sec. N°: 122, Id. de Sec. N°: 126, Id. de Sec. N°: 130, Id. de Sec. N°: 134, Id. de Sec. N°: 138, Id. de Sec. N°: 142, Id. de Sec. N°: 146, Id. de Sec. N°: 150, e Id. de Sec. N°: 154.

En una realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido en el que una cadena pesada Fab específica para FAP comparte un
 10 enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación en botón, que a su vez comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con un polipéptido IL-2. En una realización más específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido seleccionada entre el grupo de Id. de Sec. N°: 195, Id. de Sec. N°: 197, Id. de
 15 Sec. N°: 203, Id. de Sec. N°: 209, Id. de Sec. N°: 269, Id. de Sec. N°: 270, e Id. de Sec. N°: 273, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En una realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido en el que una cadena pesada Fab específica para FAP comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una
 20 modificación en botón, que a su vez comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con un polipéptido IL-15. En una realización más específica, el inmunoconjugado comprende la secuencia de polipéptido de Id. de Sec. N°: 199, o una variante de la misma que retiene la funcionalidad. En una realización el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido en el que una
 25 cadena pesada Fab específica para FAP comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación en ojal. En una realización más específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido seleccionada entre el grupo de Id. de

Sec. N°: 193, Id. de Sec. N°: 201 e Id. de Sec. N°: 207, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En otra realización, el inmunoconjugado comprende una cadena ligera de Fab específica para FAP. En una realización más específica, el inmunoconjugado comprende la secuencia de polipéptido de

5 Id. de Sec. N°: 205 o Id. de Sec. N°: 211, o una variante de las mismos que retiene la funcionalidad. En otra realización, el inmunoconjugado comprende la secuencia de polipéptido de Id. de Sec. N°: 205, la secuencia de polipéptido de Id. de Sec. N°: 193, y una secuencia de polipéptido seleccionada entre el grupo de Id. de Sec. N°: 195, Id. de Sec. N°: 197, Id. de Sec. N°: 199 e Id. de Sec. N°:

10 269, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En aún otra realización, el inmunoconjugado comprende las secuencias de polipéptido de Id. de Sec. N°: 201, Id. de Sec. N°: 203 e Id. de Sec. N°: 205, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En aún otra realización, el inmunoconjugado comprende las secuencias de polipéptido de Id. de Sec. N°:

15 207, Id. de Sec. N°: 209 e Id. de Sec. N°: 211, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En aún otra realización, el inmunoconjugado comprende las secuencias de polipéptido de Id. de Sec. N°: 205, Id. de Sec. N°: 193 e Id. de Sec. N°: 269, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En aún otra realización, el inmunoconjugado comprende las

20 secuencias de polipéptido de Id. de Sec. N°: 211, Id. de Sec. N°: 207 e Id. de Sec. N°: 271, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En aún otra realización, el inmunoconjugado comprende las secuencias de polipéptido de Id. de Sec. N°: 211, Id. de Sec. N°: 207 e Id. de Sec. N°: 273, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En otra realización específica, los

25 polipéptidos están unidos de forma covalente, por ejemplo, por un enlace disulfuro. En algunas realizaciones las subunidades del dominio Fc comprende cada una las sustituciones de aminoácido L234A, L235A, y P329G.

En aún otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia

de polipéptido en el que una cadena pesada Fab específica para FAP comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación en ojal, que a su vez comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con un polipéptido IL-1 α . En una realización más

5 específica, el inmunoconjugado comprende la secuencia de polipéptido de Id. de Sec. N°: 243 o Id. de Sec. N°: 245, o una variante de las mismos que retiene la funcionalidad. En una realización el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido en el que una cadena pesada Fab específica para FAP comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio

10 Fc que comprende una modificación en botón. En una realización más específica, el inmunoconjugado comprende la secuencia de polipéptido de Id. de Sec. N°: 241 o una variante de las mismos que retiene la funcionalidad. En otra realización, el inmunoconjugado comprende una cadena ligera de Fab específica para FAP. En una realización más específica, el inmunoconjugado

15 comprende la secuencia de polipéptido de Id. de Sec. N°: 205 o una variante de las mismos que retiene la funcionalidad. En otra realización, el inmunoconjugado comprende las secuencias de polipéptido de Id. de Sec. N°: 205, Id. de Sec. N°: 241 e Id. de Sec. N°: 243, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En aún otra realización, el inmunoconjugado comprende las

20 secuencias de polipéptido de Id. de Sec. N°: 205, Id. de Sec. N°: 241 e Id. de Sec. N°: 245, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En otra realización específica, los polipéptidos están unidos de forma covalente, por ejemplo, por un enlace disulfuro. En algunas realizaciones las subunidades del dominio Fc comprenden cada una las sustituciones de aminoácido L234A,

25 L235A, y P329G.

En una realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o

99% a una secuencia seleccionada entre el grupo de Id. de Sec. N°: 196, Id. de Sec. N°: 198, Id. de Sec. N°: 200, Id. de Sec. N°: 204, Id. de Sec. N°: 210, Id. de Sec. N°: 244, Id. de Sec. N°: 246, Id. de Sec. N°: 270, Id. de Sec. N°: 272 e Id. de Sec. N°: 274. En otra realización específica, el inmunoconjugado comprende

5 una secuencia de polipéptido codificada por una secuencia de polinucleótido seleccionada entre el grupo de Id. de Sec. N°: 196, Id. de Sec. N°: 198, Id. de Sec. N°: 200, Id. de Sec. N°: 204, Id. de Sec. N°: 210, Id. de Sec. N°: 244, Id. de Sec. N°: 246, Id. de Sec. N°: 270, Id. de Sec. N°: 272 e Id. de Sec. N°: 274. En otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de

10 polipéptido codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a una secuencia seleccionada entre el grupo de Id. de Sec. N°: 194, Id. de Sec. N°: 202, Id. de Sec. N°: 208 e Id. de Sec. N°: 242. En aún otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido

15 codificada por una secuencia de polinucleótido seleccionada entre el grupo de Id. de Sec. N°: 194, Id. de Sec. N°: 202, Id. de Sec. N°: 208 e Id. de Sec. N°: 242. En otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o

20 99% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 206 o Id. de Sec. N°: 212. En aún otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por la secuencia de polinucleótido de Id. de Sec. N°: 206 o Id. de Sec. N°: 212.

En una realización, el inmunoconjugado comprende al menos una,

25 normalmente dos o más porciones de unión a antígeno que son específicas para el antígeno carcinoembrionario (CEA). En una realización específica, las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de la región variable de la cadena pesada que es idéntica en al menos alrededor

de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 191 o Id. de Sec. N°: 295 o una variante de las mismos que retiene la funcionalidad. En otra realización específica, las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de la región variable

5 de la cadena ligera que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 189 o Id. de Sec. N°: 293 o una variante de las mismos que retiene la funcionalidad. En una realización más específica, las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de la región variable de la cadena

10 pesada que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 191, o una variante de las mismos que retiene la funcionalidad, y una secuencia de la región variable de la cadena ligera que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% a la secuencia de Id. de

15 Sec. N°: 189, o una variante de las mismos que retiene la funcionalidad. En otra realización específica, las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de la región variable de la cadena pesada que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 295, o una variante de la misma

20 que retiene la funcionalidad, y una secuencia de la región variable de la cadena ligera que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 293, o una variante de la misma que retiene la funcionalidad

En otra realización específica, la secuencia de la región variable de la

25 cadena pesada de las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado está codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 192 o Id. de Sec. N°: 296. En aún otra realización específica,

la secuencia de la región variable de la cadena pesada de las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado está codificada por la secuencia de polinucleótido de Id. de Sec. N°: 192 o Id. de Sec. N°: 296. En otra realización específica, la secuencia de la región variable de la cadena ligera de las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado está codificada por una secuencia de polinucleótidos que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 190 o Id. de Sec. N°: 294. En aún otra realización específica, la secuencia de la región variable de la cadena ligera de las porciones de unión a antígeno del inmunoconjugado está codificada por la secuencia de polinucleótido de Id. de Sec. N°: 190 o Id. de Sec. N°: 294.

En una realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido en el que una cadena pesada Fab específica para CEA comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación en botón, que a su vez comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con un polipéptido IL-2. En una realización más específica, el inmunoconjugado comprende la secuencia de polipéptido seleccionada de entre el grupo que comprende los Id. de Sec. N°: 229, Id. de Sec. N°: 275, Id. de Sec. N°: 277 e Id. de Sec. N°: 279, o una variante de los mismos que retiene la funcionalidad. En una realización el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido en el que una cadena pesada Fab específica para CEA comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación en ojal. En una realización más específica, el inmunoconjugado comprende la secuencia de polipéptido de Id. de Sec. N°: 227, o Id. de Sec. N°: 281 o una variante de la misma que retiene la funcionalidad. En otra realización, el inmunoconjugado comprende una cadena ligera de Fab específica para CEA. En una realización más específica, el inmunoconjugado comprende la secuencia de polipéptido de

Id. de Sec. N°: 231 o Id. de Sec. N°: 283 o una variante de la misma que retiene la funcionalidad. En otra realización, el inmunoconjugado comprende las secuencias de polipéptido de Id. de Sec. N°: 227, Id. de Sec. N°: 229 e Id. de Sec. N°: 231, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En otra
5 realización, el inmunoconjugado comprende las secuencias de polipéptido de Id. de Sec. N°: 275, Id. de Sec. N°: 281 e Id. de Sec. N°: 283, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En otra realización, el inmunoconjugado comprende las secuencias de polipéptido de Id. de Sec. N°: 277, Id. de Sec. N°: 281 e Id. de Sec. N°: 283, o variantes de las mismas que retienen la
10 funcionalidad. En otra realización, el inmunoconjugado comprende las secuencias de polipéptido de Id. de Sec. N°: 279, Id. de Sec. N°: 281 e Id. de Sec. N°: 283, o variantes de las mismas que retienen la funcionalidad. En otra realización específica, los polipéptidos están unidos de forma covalente, por ejemplo, por un enlace disulfuro. En algunas realizaciones las cadenas de
15 polipéptido del dominio Fc comprenden las sustituciones de aminoácido L234A, L235A, y P329G.

En una realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o
20 99% a una secuencia seleccionada entre el grupo que consiste en Id. de Sec. N°: 230, Id. de Sec. N°: 276, Id. de Sec. N°: 278 e Id. de Sec. N°: 280.

En otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una
25 secuencia de polipéptido codificada por la secuencia de polinucleótido de Id. de Sec. N°: 230, Id. de Sec. N°: 276, Id. de Sec. N°: 278 e Id. de Sec. N°: 280. En

otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 228 o Id. de Sec. N°: 282. En aún otra realización

5 específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por la secuencia de polinucleótido de Id. de Sec. N°: 228 o Id. de Sec. N°: 282. En otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por una secuencia de polinucleótido que es idéntica en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o

10 99% a la secuencia de Id. de Sec. N°: 232 o Id. de Sec. N°: 284. En aún otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificada por la secuencia de polinucleótido de Id. de Sec. N°: 232 o Id. de Sec. N°: 284.

En algunas realizaciones el inmunoconjugado comprende una secuencia

15 de polipéptido en el que un polipéptido de la porción efectora comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación en botón. En una realización más específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido seleccionada entre el grupo de Id. de Sec. N°: 247, Id. de Sec. N°: 249 e Id. de Sec. N°: 251, o una

20 variante de las mismos que retiene la funcionalidad. En una de estas realizaciones el inmunoconjugado comprende además una secuencia de polipéptido en el que una cadena pesada Fab específica para FAP comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación en ojal. En una realización más específica, el

25 inmunoconjugado comprende además una secuencia de polipéptido seleccionada entre el grupo de Id. de Sec. N°: 193, Id. de Sec. N°: 201 e Id. de Sec. N°: 207, o una variante de las mismos que retiene la funcionalidad. En otra de dichas realizaciones el inmunoconjugado comprende además una secuencia

de polipéptido en el que una cadena pesada Fab específica para EDB, TNC A1, TNC A2 o CEA comparte un enlace del péptido carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación en ojal. En algunas realizaciones las subunidades del dominio Fc comprenden cada una las

5 sustituciones de aminoácido L234A, L235A, y P329G. De acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores el inmunoconjugado puede comprender además una cadena ligera de Fab específica para el antígeno correspondiente.

Inmunoconjugados de la invención incluyen aquellos que poseen

10 secuencias que son idénticas en al menos alrededor de un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% a las secuencias mostradas en Id. de Sec. N° 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135,

15 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 293, 295, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285 y 287, que incluye los fragmentos funcionales o variantes de los mismos. La

20 invención también abarca inmunoconjugados que comprenden estas secuencias con sustituciones de aminoácido conservadoras.

Polinucleótidos

La invención además proporciona polinucleótidos aislados que codifican un inmunoconjugado como el aquí descrito o un fragmento de los mismos.

25 Los polinucleótidos de la invención incluyen aquellos que son idénticos al menos en un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% a las

secuencias mostradas en Id. de Sec. N° 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 5 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 294, 296, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286 y 288, lo que incluye los fragmentos o variantes funcionales de los mismos.

- 10 Los polinucleótidos que codifican los inmunoconjugados de la invención pueden expresarse como un único polinucleótido que codifica el inmunoconjugado completo o como polinucleótidos múltiples (por ejemplo, dos o más) que se coexpresan. Los polipéptidos codificados por los polinucleótidos que se coexpresan pueden asociarse a través de, por ejemplo, enlaces disulfuro
- 15 u otros medios para formar un inmunoconjugado funcional. Por ejemplo, la porción de la cadena ligera de una porción de unión a antígeno puede estar codificada por un polinucleótido separado de la porción del inmunoconjugado que comprende la porción de la cadena pesada de la porción de unión a antígeno, una subunidad del dominio Fc y opcionalmente la porción efectora.
- 20 Cuando se coexpresan, los polipéptidos de la cadena pesada se asociarán con los polipéptidos de la cadena ligera para formar la porción de unión a antígeno. En otro ejemplo, la porción del inmunoconjugado que comprende la porción de la cadena pesada de una primera porción de unión a antígeno, una de las dos subunidades del dominio Fc y la porción efectora pueden estar codificados por
- 25 un polinucleótido separado de la porción del inmunoconjugado que comprende la porción de la cadena pesada de una segunda porción de unión a antígeno y la otra de las dos subunidades del dominio Fc. Cuando se coexpresan, las subunidades del dominio Fc se asociarán para formar el dominio Fc.

En una realización, un polinucleótido aislado de la invención codifica un fragmento de un inmunconjugado que comprende una primera porción de unión a antígeno, un dominio Fc que consiste en dos subunidades, y una única porción efectora, en el que la porción de unión a antígeno es un dominio de

5 unión a antígeno que comprende una región variable de la cadena pesada y una región variable de la cadena ligera, en concreto una molécula Fab. En una realización, un polinucleótido aislado de la invención codifica la cadena pesada de la primera porción de unión a antígeno, una subunidad del dominio Fc y la porción efectora. En otra realización, un polinucleótido aislado de la invención

10 codifica la cadena pesada de la primera porción de unión a antígeno y una subunidad del dominio Fc. En otra realización, un polinucleótido aislado de la invención codifica una subunidad del dominio Fc y la porción efectora. En una realización más específica el polinucleótido aislado codifica un polipéptido en el que una cadena pesada del Fab comparte un enlace peptídico carboxiterminal

15 con una subunidad del dominio Fc. En otra realización específica, el polinucleótido aislado codifica un polipéptido en el que una subunidad del dominio Fc comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido de la porción efectora. En otra realización específica, el polinucleótido aislado codifica un polipéptido en el que una cadena pesada del Fab comparte un

20 enlace peptídico carboxiterminal con una subunidad del dominio Fc, que a su vez comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido de la porción efectora. En otra realización específica adicional, el polinucleótido aislado codifica un polipéptido en el que un polipéptido de la porción efectora comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una subunidad del dominio

25 Fc.

En otra realización, la presente invención está dirigida a un polinucleótido aislado que codifica un inmunconjugado o fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia que codifica una secuencia de la

región variable tal como se muestra en los Id. de Sec. N° 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 293 o 295. En otra realización, la presente invención está dirigida a un polinucleótido aislado que codifica un inmunconjugado o fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia que codifica una secuencia de polipéptido tal como se muestra en los Id. de Sec. N° 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285 o 287. En otra realización, la invención además está dirigida a un polinucleótido aislado que codifica un inmunconjugado o fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia que es idéntica en al menos un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% a las secuencias de nucleótidos que se muestran en los Id. de Sec. N° 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 294, 296, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286 o 288. En otra realización, la invención está dirigida a un polinucleótido aislado que codifica un inmunconjugado o fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia de ácido nucleico de las que se muestran en los Id. de Sec. N° 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90,

92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 294, 296, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 5 218, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286 or 288. En otra realización, la invención está dirigida a un polinucleótido aislado que codifica un inmunconjugado o fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia que codifica una secuencia de la región variable que es idéntica al menos en un 10 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% a una secuencia de aminoácidos de los Id. de Sec. N° 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 15 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 293 o 295. En otra realización, la invención está dirigida a un polinucleótido aislado que codifica un inmunconjugado o fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia que codifica una secuencia de polipéptido que es idéntica en al menos un 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 20 98% o 99% a una secuencia de aminoácidos de los Id. de Sec. N° 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285 o 287. La invención incluye un polinucleótido aislado que codifica un inmunconjugado o fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende 25 una secuencia que codifica las secuencias de la región variable de los Id. de Sec. N° 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133,

135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 293 o 295 con sustituciones de aminoácidos conservativas. La invención también incluye un polinucleótido aislado que codifica un inmunoconjugado de la invención o

5 fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia que codifica las secuencias polipeptídicas de los Id. de Sec. N° 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285 or 287 con sustituciones de aminoácido conservativas.

10 En ciertas realizaciones, el polinucleótido o ácido nucleico es DNA. En otras realizaciones, un polinucleótido de la presente invención es RNA, por ejemplo, en forma de RNA mensajero (mRNA). El RNA de la presente invención puede ser de cadena sencilla o de doble cadena.

Conjugados no dirigidos

15 La invención proporciona no sólo inmunoconjugados dirigidos a un antígeno específico (por ejemplo, un antígeno tumoral), si no también conjugados no dirigidos que comprenden una o más moléculas de Fab que no se unen específicamente a ningún antígeno, en particular no se unen a ningún antígeno humano. La ausencia de unión específica de estos conjugados a

20 ningún antígeno (es decir, la ausencia de cualquier unión que puede ser discriminada de la interacción no específica) se puede medir por ejemplo, mediante ELISA o resonancia de plasmón en superficie como se describe en este documento. Dichos conjugados son particularmente útiles, por ejemplo, para aumentar la vida media en suero de la porción efectora que comprenden,

25 en comparación con la vida media en suero de la porción efectora no conjugada, en el que no se desea la localización a un tejido en particular.

Específicamente, la invención proporciona un conjugado que comprende una primera molécula de Fab que no se une específicamente a ningún antígeno, un dominio Fc que consiste en dos subunidades, y una porción efectora, en el que no más de una porción efectora está presente. Más específicamente, la

5 invención proporciona un conjugado que comprende una primera molécula de Fab que comprende la secuencia de la cadena pesada de la región variable del Id. de Sec. N^o: 299 y la secuencia de la región variable de la cadena ligera del Id. de Sec. N^o: 297, un dominio Fc que consiste en dos subunidades, y una porción efectora, en el que no más de una porción efectora está presente. Al

10 igual que los inmunoconjugados de la invención, los conjugados pueden tener una variedad de configuraciones, tal como se ha descrito anteriormente bajo "Formatos de inmunoconjugados" (la porción de unión a antígeno del inmunoconjugado está sustituida por una molécula de Fab que no se une específicamente a ningún antígeno, tal como una molécula Fab que comprende

15 la secuencia de la cadena pesada de la región variable del Id. de Sec. N^o: 299 y la secuencia de la región variable de la cadena ligera del Id. de Sec. N^o: 297). Del mismo modo, las características del dominio Fc, así como la porción efectora como se describe anteriormente bajo "dominio Fc" y "porciones efectoras" para los inmunoconjugados de la invención se aplican igualmente,

20 solo o en combinación, a los conjugados de la invención no dirigidos.

En una realización particular, el conjugado comprende (i) una molécula de inmunoglobulina, que comprende una primera y una segunda molécula de Fab que no se unen específicamente a ningún antígeno y un dominio Fc, y (ii) una porción efectora, en la que no más de una porción efectora está presente y en el

25 que la molécula de inmunoglobulina es una inmunoglobulina IgG1 humana, el dominio Fc comprende una modificación de tipo botón en una de las subunidades y una modificación de tipo ojal en la otra subunidad, y las sustituciones de aminoácido L234A, L235A y P329G en cada una de sus

subunidades, y la porción efectora es una molécula IL-2 fusionada con el aminoácido carboxi-terminal de una de las cadenas pesadas de inmunoglobulina, opcionalmente a través de un péptido enlazante. En una forma de realización específica, el conjugado comprende la secuencia de la cadena pesada de la región variable del Id. de Sec. N°: 299 y la secuencia de la región variable de la cadena ligera del Id. de Sec. N°: 297.

En ciertas formas de realización, el conjugado comprende (i) una molécula de inmunoglobulina, que comprende la secuencia de la región variable de la cadena pesada del Id. de Sec. N°: 299 y la secuencia de la región variable de la cadena ligera del Id. de Sec. N°: 297, y (ii) una porción efectora, en la que no más de una porción efectora está presente. En una realización la molécula de inmunoglobulina es una inmunoglobulina de subclase IgG1 humana. En una de dichas realizaciones el dominio Fc comprende una modificación de tipo botón en una de las subunidades y una modificación de tipo ojal en la otra subunidad. En una de dichas formas de realización específica, el dominio Fc comprende las sustituciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G en cada una de sus subunidades. En aún otra realización de este tipo, la porción efectora es una molécula de IL-2 fusionada con el aminoácido carboxi-terminal de una de las cadenas pesadas de inmunoglobulina, opcionalmente a través de un péptido enlazante.

En una realización, el conjugado comprende una secuencia de polipéptido en el que una cadena pesada de Fab que no se une específicamente a ningún antígeno comparte un enlace peptídico carboxi-terminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación de tipo botón, que a su vez, comparte un enlace peptídico carboxi-terminal con un polipéptido de IL-2. En una realización más específica, el conjugado comprende una secuencia polipeptídica seleccionada de entre el grupo del Id. de Sec. N°: 221, Id. de Sec.

N °: 223, Id. de Sec. N °: 289 e Id. de Sec. N°: 291, o una variante del mismo que conserva la funcionalidad. En una realización, el conjugado comprende una secuencia de polipéptido en el que una cadena pesada de Fab que no se une específicamente a ningún antígeno comparte un enlace peptídico carboxi-
5 terminal con una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación de tipo ojal. En una realización más específica, el conjugado comprende la secuencia del polipéptido de Id. de Sec. N°: 219, o una variante del mismo que conserva la funcionalidad. En otra forma de realización, el conjugado comprende una cadena ligera de Fab que no se une específicamente a ningún antígeno. En
10 una realización más específica, el conjugado comprende la secuencia del polipéptido de Id. de Sec. N°: 225, o una variante del mismo que conserva la funcionalidad. En otra forma de realización, el conjugado comprende las secuencias de polipéptidos del Id. de Sec. N°: 219, Id. de Sec. N°: 221 e Id. de Sec. N°: 225, o variantes de los mismos que conservan la funcionalidad. En otra
15 forma de realización, el conjugado comprende las secuencias de polipéptidos de Id. de Sec. N°: 219, Id. de Sec. N°: 223 e Id. de Sec. N°: 225, o variantes de las mismas que conservan la funcionalidad. En otra forma de realización, el conjugado comprende las secuencias de polipéptidos de Id. de Sec. N°: 219, Id. de Sec. N°: 289 e Id. de Sec. N°: 225, o variantes de los mismos que conservan
20 la funcionalidad. En otra forma de realización, el conjugado comprende las secuencias de polipéptidos de Id. de Sec. N°: 219, Id. de Sec. N°: 291 e Id. de Sec. N°: 225, o variantes de las mismas que conservan la funcionalidad. En otra forma de realización específica, los polipéptidos se unen covalentemente, por ejemplo, mediante un enlace disulfuro. En algunas realizaciones, las cadenas de
25 polipéptidos de dominio Fc comprenden las sustituciones de aminoácidos L234A, L235A, y P329G.

En una forma de realización específica, el conjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia de polinucleótido que es

idéntica en al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % a una secuencia seleccionada de entre el grupo que consiste en Id. de Sec. N°: 298, Id. de Sec. N°: 300, Id. de Sec. N°: 220, Id. de Sec. N°: 222, Id. de Sec. N°: 224, Id. de Sec. N°: 226, Id. de Sec. N°: 290 e Id. de Sec. N°: 292. En otra forma de realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia de polipéptido codificado por la secuencia de polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en Id. de Sec. N°: 298, Id. de Sec. N°: 300, Id. de Sec. N°: 220, Id. de Sec. N°: 222, Id. de Sec. N°: 224, Id. de Sec. N°: 226, Id. de Sec. N°: 290 e Id. de Sec. N°: 292.

- 10 La invención también proporciona un polinucleótido aislado que codifica el conjugado de la invención de un fragmento de la misma. En una forma de realización específica, el polinucleótido aislado comprende una secuencia que es idéntica en al menos aproximadamente un 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % a la de una secuencia seleccionada del grupo de Id. de Sec. N°: 298, Id. de Sec. N°: 300, Id. de Sec. N°: 220, Id. de Sec. N°: 222, Id. de Sec. N°: 224, Id. de Sec. N°: 226, Id. de Sec. N°: 290 e Id. de Sec. N°: 292. La invención proporciona además un vector de expresión que comprende el polinucleótido aislado, y una célula huésped que comprende el polinucleótido aislado o el vector de expresión de la invención. En otro aspecto, se proporciona un método para producir el conjugado de la invención, que comprende los pasos de a) cultivar la célula huésped de la invención en condiciones adecuadas para la expresión del conjugado y b) recuperar el conjugado. La invención también abarca un conjugado producido por el método de la invención. La descripción proporcionada en el presente documento en relación con los métodos de producción de los inmunoconjugados de la invención (véase, por ejemplo en "Métodos recombinantes") puede aplicarse igualmente a los conjugados de la invención.

La invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende el conjugado de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La descripción proporcionada en el presente documento en relación a las composiciones farmacéuticas de los inmunoconjugados de la invención (véase, por ejemplo en "Composiciones, formulaciones y rutas de administración") puede igualmente aplicarse a los conjugados de la invención. Además, el conjugado se puede emplear en los métodos de uso descritos en el presente documento para los inmunoconjugados de la invención. La descripción proporcionada en el presente documento en relación con métodos de uso de los inmunoconjugados de la invención en el tratamiento de la enfermedad (véase, por ejemplo en "Métodos terapéuticos y composiciones", "Otros agentes y tratamientos" y "artículos de fabricación") puede igualmente aplicarse a los conjugados de la invención.

Métodos recombinantes

Los inmunoconjugados de la invención pueden obtenerse, por ejemplo, mediante síntesis peptídica en estado sólido (por ejemplo, la síntesis en fase sólida de Merrifield) o producción recombinante. Para la producción recombinante uno o más polinucleótidos que codifican el inmunoconjugado (fragmento), por ejemplo, como los descritos anteriormente, se aísla y se inserta en uno o más vectores para su posterior clonaje y/o expresión en una célula huésped. Tal polinucleótido puede aislarse fácilmente y secuenciarse utilizando procedimientos convencionales. En una realización, se proporciona un vector, preferiblemente un vector de expresión, que comprende uno o más de los polinucleótidos de la invención. Pueden utilizarse los métodos que son bien conocidos para los expertos en la materia para la construcción de vectores de expresión que contengan la secuencia codificante de un inmunoconjugado (fragmento) junto con las señales de control transcripcional/ traduccional

apropiadas. Estos métodos incluyen las técnicas de DNA recombinante *in vitro*, técnicas sintéticas y la 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 y 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 se clona el polinucleótido que codifica el inmunoconjugado (fragmento) (es decir, la región codificante) en asociación operativa con un promotor y/o otros elementos de control de la transcripción o traducción. Como se utiliza aquí, una "región codificante" es una porción de ácido nucleico que consiste en codones traducidos en aminoácidos. Aunque un "codón de parada" (TAG, TGA, o TAA) no se traduce en un aminoácido, puede considerarse que forma parte de una región codificante, si está presente, pero cualquier secuencia flanqueante, por ejemplo promotores, puntos de unión al ribosoma, terminadores transcripcionales, intrones, regiones no traducidas en 5' y 3', y similares, no forman parte de una región codificante. Dos o más regiones codificantes pueden encontrarse en una única construcción polinucleotídica, por ejemplo, en un único vector, o en construcciones polinucleotídicas separadas, por ejemplo, en vectores separados (diferentes). Además, cualquier vector puede contener una única región codificante, o puede comprender dos o más regiones codificantes, por ejemplo, un vector de la presente invención puede codificar uno o más polipéptidos, que se separan post- o co-traduccionalmente en las proteínas finales a través de una escisión proteolítica. Además, un vector, polinucleótido o ácido nucleico de la invención puede codificar regiones codificantes heterólogas, tanto fusionadas como no fusionadas con un polinucleótido que codifica el inmunoconjugado (fragmento) de la invención, o una variante o derivado del mismo. Las regiones codificantes

heterólogas incluyen sin limitación elementos o motivos especializados, como un péptido señal de secreción o un dominio funcional heterólogo. Una asociación operativa es cuando una región codificante para un producto génico, por ejemplo, un polipéptido, está asociada con uno o más secuencias reguladoras

5 de tal manera que sitúa la expresión del producto génico bajo la influencia o control de la(s) secuencia(s) reguladora(s). Dos fragmentos de DNA (como una región codificante de polipéptido y un promotor asociado con ésta) están "asociados de forma operativa" si la inducción de la función del promotor resulta en la transcripción de mRNA que codifica el producto génico deseado y si la

10 naturaleza de la unión entre los dos fragmentos de DNA no interfiere con la capacidad de las secuencias reguladoras de la expresión de dirigir la expresión del producto génico o interfiere con la capacidad del molde de DNA de poderse transcribir. Por lo tanto, una región promotor estaría asociada de forma operativa con un ácido nucleico que codifica un polipéptido si el promotor fuera capaz de

15 efectuar la transcripción de tal ácido nucleico. El promotor puede ser un promotor específico de célula que dirige la transcripción sustancial del DNA sólo en determinadas células. Otros elementos de control de la transcripción, aparte del promotor, por ejemplo potenciadores, operadores, represores y señales de finalización de la transcripción, pueden estar asociadas de forma

20 operativa con el polinucleótido para dirigir la transcripción específica de célula. Aquí se describen promotores adecuados y otras regiones de control de la transcripción. Los expertos en la materia conocen una serie de regiones de control de la transcripción. Éstas incluyen, sin limitación, regiones de control de la transcripción que funcionan en las células de vertebrados como por ejemplo,

25 pero sin limitarse a los segmentos promotores y potenciadores de los citomegalovirus (por ejemplo, el promotor temprano inmediato, junto con el intrón A), del virus de los simios 40 (por ejemplo, el promotor temprano), y los retrovirus (como por ejemplo, el virus del sarcoma de Rous). Otras regiones de

control de la transcripción incluyen las derivadas de genes de vertebrados como la actina, proteína de choque de calor, hormona de crecimiento bovina y α -globina de conejo, así como otras secuencias capaces de controlar la expresión génica en células eucariotas. Otras regiones adicionales de control de la transcripción adecuadas incluyen promotores y potenciadores específicos de tejido así como promotores inducibles (por ejemplo, promotores inducibles con tetraciclinas). De forma similar, los expertos en la materia conocen una serie de elementos de control de la traducción. Éstos incluyen, pero no se limitan a los puntos de unión al ribosoma, codones de iniciación y finalización de la traducción, y elementos derivados de sistemas virales (en concreto un punto de entrada de ribosoma interno o IRES, también denominado secuencia CITE). El casete de expresión también puede incluir otras características como un origen de replicación, y/o elementos de integración en el cromosoma como las repeticiones largas terminales retrovirales (LTR) o las repeticiones terminales invertidas (ITR) virales adenoasociadas (AAV).

Las regiones codificantes de polinucleótidos y ácidos nucleicos de la presente invención puede asociarse con otras regiones codificantes que codifican péptidos secretores o señal, que dirigen la secreción de un polipéptido codificado por un polinucleótido de la presente invención. Por ejemplo, si se desea la secreción del inmunoconjugado, puede situarse DNA que codifica una secuencia señal río arriba al ácido nucleico que codifica un inmunoconjugado de la invención o un fragmento de los mismos. De acuerdo con la hipótesis de la señal, las proteínas secretadas por las células de mamífero poseen un péptido señal o secuencia líder secretora que se escinde de la proteína madura una vez se ha iniciado la exportación de la cadena proteica en crecimiento a través del retículo endoplasmático rugoso. Los expertos en la materia conocerán el hecho de que los polipéptidos secretados por las células de vertebrados generalmente poseen un péptido señal fusionado al extremo N-terminal del polipéptido, que se

escinde del polipéptido traducido para producir una forma secretada o "madura" del polipéptido. En ciertas realizaciones, se utiliza el péptido señal nativo, por ejemplo, el péptido señal de una cadena pesada o cadena ligera de inmunoglobulina, o un derivado funcional de esa secuencia que retiene la

5 capacidad de dirigir la secreción del polipéptido que está asociado de forma operativa con éste. Alternativamente, puede utilizarse un péptido señal heterólogo de mamífero, o un derivado funcional del mismo. Por ejemplo, la secuencia líder salvaje puede sustituirse con la secuencia líder del activador del plasminógeno tisular humano (TPA) o β -glucuronidasa de ratón. Ejemplos de

10 secuencias de aminoácido y correspondientes polinucleótidos de los péptidos señal secretorios se muestran en los Id. de Sec N° 8-16.

Puede incluirse DNA que codifique una secuencia proteica corta que pueda utilizarse para facilitar su posterior purificación (por ejemplo, una cola de histidinas) o ayudar con el marcaje del inmunoconjugado, en el interior o en los

15 extremos del polinucleótido que codifica el inmunoconjugado (fragmento).

En una realización adicional, se proporciona una célula huésped que comprende uno o más polinucleótidos de la invención. En ciertas realizaciones se proporcionan células huésped que comprenden uno o más vectores de la invención. Los polinucleótidos y vectores pueden incorporar cualquiera de las

20 características aquí descritas, individualmente o en combinación, en relación a los polinucleótidos y vectores respectivamente. En una de tales realizaciones, una célula huésped comprende (por ejemplo, se ha transformado o se ha transfectado con) un vector que comprende un polinucleótido que codifica (parte de) un inmunoconjugado de la invención. Como se utiliza aquí, el término "célula

25 huésped" se refiere a cualquier tipo de sistema celular que pueda diseñarse para que genere los inmunoconjugados de la invención o fragmentos de los mismos. Las células huésped adecuadas para la replicación y para soportar la

expresión de los inmunoconjugados son bien conocidas en la materia. Tales células pueden transfectarse o transducidas según sea apropiado, con el vector de expresión concreto y se pueden cultivar grandes cantidades de células que contienen el vector para alimentar fermentadores a gran escala y obtener

5 cantidades suficientes del inmunoconjugado para aplicaciones clínicas. Las células huésped adecuadas incluyen los microorganismos procariotas, como *E. coli*, o varias células eucariotas, como las células de ovario de hámster chino (CHO), células de insecto o similares. Por ejemplo, los polipéptidos pueden producirse en bacterias, en particular cuando no es necesaria la glucosilación.

10 Tras la expresión, el polipéptido puede aislarse a partir de la pasta de células bacterianas en una fracción soluble y puede purificarse posteriormente. Además de los procariotas, los microbios eucariotas como los hongos filamentosos o las levaduras son huéspedes adecuados para el clonaje o la expresión de vectores que codifican polipéptidos, lo que incluye las cepas de hongos y levaduras cuyas

15 vías de glucosilación se han “humanizado”, lo que resulta en la producción de un polipéptido con un patrón de glucosilación parcial o totalmente humano. Véase 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

20 vertebrados). Ejemplos de células de invertebrados incluyen las células de plantas e insectos. Se han identificado numerosas cepas de baculovirus que pueden utilizarse junto con las células de insecto, en concreto para la transfección de células de *Spodoptera frugiperda*. Los cultivos de células vegetales también pueden utilizarse como huéspedes. Véanse por ejemplo, las

25 patentes estadounidense N° 5.959.177, 6.040.498, 6.420.548, 7.125.978 y 6.417.429 (que describen la tecnología de PLANTIBODIES™ para la producción de anticuerpos en plantas transgénicas). Las células de vertebrados también pueden utilizarse como huéspedes. Por ejemplo, pueden ser útiles las líneas

celulares de mamífero que están adaptadas a su crecimiento en suspensión. Otros ejemplos de líneas celulares huésped de mamífero útiles son la línea CV1 de riñón de mono transformada por el SV40 (COS-7), la línea de riñón embrionario humano (células 293 o 293T como se describen, por ejemplo, en

5 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 las descritas, 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 cervical humano (HELA), células de riñón de perro (MDCK), células de hígado

10 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)), células MRC 5 y células FS4. Otras líneas de células huésped de mamífero útiles incluyen las células de ovario de hámster chino (CHO), lo que

15 incluye las células CHO dhfr⁻ (Urlaub et al., Proc Natl Acad Sci USA 77, 4216 (1980)) y las líneas celulares de mieloma como YO, NS0, P3X63 y Sp2/0. Para una revisión de ciertas líneas de células huésped de mamífero adecuadas para la producción de proteínas, véase por ejemplo, Yazaki y Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), págs.

20 255-268 (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 sólo algunas, pero también las células comprendidas en un animal transgénico, planta transgénica, o tejido de planta cultivada o animal. En una realización, la célula huésped es una célula

25 eucariota, preferiblemente una célula de mamífero, como una célula de ovario de hámster chino (CHO), una célula de riñón embrionario humano (HEK) o una célula linfoide (por ejemplo, células Y0, NS0 y Sp20).

Son conocidas en la materia las tecnologías estándar para expresar

genes foráneos en estos sistemas. Las células que expresan un polipéptido que comprende la cadena pesada o la ligera de un dominio de unión a antígeno como un anticuerpo, pueden modificarse de forma que también exprese las otras cadenas de anticuerpo de forma que el producto expresado sea un anticuerpo que posee tanto la cadena pesada como la cadena ligera.

En una realización, se proporciona un método para producir un inmunoconjugado de acuerdo con la invención, en el que el método comprende cultivar una célula huésped que comprende un polinucleótido que codifica el inmunoconjugado, como aquí se proporciona, bajo las condiciones adecuadas para la expresión del inmunoconjugado, y la recuperación del inmunoconjugado a partir de la célula huésped (o medio de cultivo de la célula huésped).

Los componentes del inmunoconjugado están fusionados genéticamente entre ellos. Los inmunoconjugados pueden modificarse de forma que sus componentes se fusionen directamente entre ellos o indirectamente a través de una secuencia enlazante. La composición y longitud del enlazante puede determinarse de acuerdo con los métodos bien conocidos en la materia y puede comprobarse su eficacia. Ejemplos de secuencias enlazantes entre la porción efectora y el dominio Fc se encuentran en las secuencias que se muestran en los Id. de Sec nº 195, 197, 199, 203, 209, 215, 229, 235, 237, 243, 245, 247, 249, 251, 269, 271, 273, 275, 277, 279 y 285. También pueden incluirse secuencias adicionales para incorporar un punto de escisión para separar los componentes individuales de la fusión si se desea, por ejemplo una secuencia de reconocimiento de la endopeptidasa.

En ciertas realizaciones, una o más de las porciones de unión de antígeno del inmunoconjugado comprenden al menos una región variable de anticuerpo capaz de unirse a un determinante antigénico. Las regiones variables pueden formar parte y derivarse de anticuerpos que aparecen en la naturaleza o

no naturales, y de fragmentos de los mismos. Los métodos para producir anticuerpos policlonales y anticuerpos monoclonales son bien conocidos en la materia (véase por ejemplo, Harlow y Lane, "Antibodies, a laboratory manual", Cold Spring Harbor Laboratory, 1988). Los anticuerpos que no parecen en la

5 naturaleza pueden obtenerse utilizando la síntesis de péptidos en fase sólida, puede producirse mediante por métodos recombinantes (por ejemplo, como se describe en la patente estadounidense N° 4.186.567) o pueden obtenerse, por ejemplo, mediante bibliotecas combinatoriales de cribaje que comprenden cadenas pesadas variables y cadenas ligeras variables (véase por ejemplo, la

10 patente estadounidense N° 5.969.108 de McCafferty). Las porciones de unión al antígeno y los métodos para producirlas también se describen en detalle en la publicación PCT WO 2011/020783, cuyo contenido se incorpora aquí en su totalidad como referencia.

Pueden utilizarse los anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, dominios de

15 unión al antígeno o regiones variables de cualquier especie animal en los immunoconjugados de la invención. Los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, dominios de unión al antígeno o regiones variables útiles en la presente invención, sin limitación, pueden ser de origen murino, primate o humano. Si se pretende que el immunoconjugado sea para uso en humanos, puede utilizarse

20 una forma quimérica de anticuerpo cuando las regiones constantes del anticuerpo son humanas. Una forma humanizada o totalmente humana del anticuerpo también puede obtenerse de acuerdo con métodos bien conocidos en la materia (véase por ejemplo la patente estadounidense N° 5.565.332 de Winter). La humanización puede conseguirse mediante varios métodos, lo que

25 incluye pero no se limita a (a) injertar las CDR no humanas (por ejemplo, el anticuerpo donante) en regiones marco y constantes humanas (por ejemplo, el anticuerpo recipiente) con o sin retención de residuos marco críticos (por ejemplo, los que son importantes para retener una buena afinidad de unión a

antígeno o las funciones de anticuerpo), (b) injertar sólo las regiones determinantes de la especificidad (SDR o a-CDR, los residuos críticos para la interacción anticuerpo-antígeno) no humanas en las regiones marco y constantes humanas, o (c) transplantar los dominios variables no humanos

5 completos, pero "cubriéndolos" con una sección de tipo humano mediante el reemplazo de residuos de superficie. Los anticuerpos humanizados y los métodos para obtenerlos se revisan, por ejemplo, en Almagro y Fransson, *Front Biosci* 13, 1619-1633 (2008), y además se describen, por ejemplo, en Riechmann et al., *Nature* 332, 323-329 (1988); Queen et al., *Proc Natl Acad Sci*

10 USA 86, 10029-10033 (1989); las patentes estadounidenses N° 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); Verhoeven et al., *Science* 239, 1534-1536 (1988); Padlan, *Molec Immun* 31(3), 169-217 (1994); Kashmiri et al., *Methods* 36, 25-34

15 (2005) (que describe el injerto de SDR (a-CDR)); Padlan, *Mol Immunol* 28, 489-498 (1991) (que describe la "remodelación de superficie"); Dall'Acqua et al., *Methods* 36, 43-60 (2005) (que describe el "reordenamiento de FR"); y Osbourn et al., *Methods* 36, 61-68 (2005) y Klimka et al., *Br J Cancer* 83, 252-260 (2000) (que describen la aproximación de la "selección guiada" para el reordenamiento

20 de FR). Los anticuerpos humanos y las regiones variables humanas pueden producirse utilizando varias técnicas conocidas en la materia. 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 y derivarse de anticuerpos

25 monoclonales humanos mediante el método del hibridoma (véase por ejemplo, *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, págs. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)). Los anticuerpos humanos y las regiones variables humanas también pueden obtenerse mediante la administración de un

inmunógeno a un animal transgénico que se ha 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). Los anticuerpos humanos y las

5 regiones variables humanas también pueden generarse aislando las secuencias de la región variable del clon del Fv seleccionadas a partir de bibliotecas de expresión en fagos derivadas de humanos (véanse 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.,

10 Nature 352, 624-628 (1991)). Los fagos normalmente expresan un fragmento de anticuerpos, ya sea como fragmentos Fv de cadena sencilla (scFv) o como fragmentos Fab. Una descripción detallada de la preparación de porciones de unión al antígeno para inmunoconjugados mediante expresión en fagos puede encontrarse en los Ejemplos anexos a la publicación PCT WO 2011/020783.

15 En ciertas realizaciones, las porciones de unión al antígeno útiles en la presente invención están modificadas para que posean una afinidad de unión mejorada de acuerdo con, por ejemplo, los métodos descritos en la publicación PCT WO 2011/020783 (véanse los Ejemplos relacionados con la maduración de la afinidad) o la solicitud de patense estadounidense N° Publ. 2004/0132066,

20 cuyo contenido en su totalidad se incorporan aquí como referencia. La capacidad del inmunoconjugado de la invención de unirse a un determinante antigénico específico puede medirse ya sea a través de un ensayo inmunsorbent unido a enzima (ELISA) o a través de otras técnicas familiares al experto en la materia, por ejemplo, mediante técnica de resonancia de plasmón

25 de superficie (analizado en un sistema BIACORE T100) (Liljeblad, et al., Gluco J 17, 323-329 (2000)), y ensayos de unión tradicionales (Heeley, Endocr Res 28, 217-229 (2002)). Los ensayos de competición pueden utilizarse para identificar a un anticuerpo, fragmento de anticuerpo, dominio de unión a antígeno o dominio

variable que compite con un anticuerpo de referencia por la unión a un antígeno particular, por ejemplo, un anticuerpo que compite con el anticuerpo L19 por la unión al dominio Extra B de la fibronectina (EDB). En ciertas realizaciones, tal anticuerpo competitivo se une al mismo epítipo (por ejemplo, un epítipo lineal o conformacional) al que se une el anticuerpo de referencia. Métodos de ejemplo detallados para el mapeo de un epítipo al que se une un anticuerpo se proporcionan en Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," en *Methods in Molecular Biology* vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ). En un ensayo de competición de ejemplo, se incuba un antígeno inmovilizado (por ejemplo, EDB) en una solución que comprende un primer anticuerpo marcado que se une al antígeno (por ejemplo, el anticuerpo L19) y un segundo anticuerpo no marcado del que se va a analizar su capacidad de competir con el primer anticuerpo por la unión al antígeno. El segundo anticuerpo puede estar presente en un sobrenadante de hibridoma. Como control, se incuba antígeno inmovilizado en una solución que comprende el primer anticuerpo marcado pero no el segundo anticuerpo no marcado. Tras la incubación bajo condiciones permisivas de unión del primer anticuerpo al antígeno, se elimina el exceso de anticuerpo no unido, y se mide la cantidad de señal asociada con el antígeno inmovilizado. Si la cantidad de señal asociada con el antígeno inmovilizado se encuentra sustancialmente reducida en la muestra problema en relación a la muestra control, esto es indicativo de que el segundo anticuerpo está compitiendo con el primer anticuerpo por la unión al antígeno. Véase Harlow y Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual* cap. 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY).

Los inmunoconjugados preparados como se describen aquí pueden purificarse mediante técnicas conocidas en la materia como la cromatografía líquida de alta resolución, la cromatografía de intercambio iónico, electroforesis en gel, cromatografía de afinidad, cromatografía de exclusión por tamaño y

similares. Las condiciones actuales utilizadas para purificar una proteína particular dependerán, en parte, de factores como la carga neta, hidrofobicidad, hidrofiliidad, etc. y serán evidentes para los expertos en la materia. Para la purificación mediante cromatografía de afinidad puede utilizarse un anticuerpo, 5 ligando, receptor o antígeno al que el inmunoconjugado se una. Por ejemplo, para la purificación mediante cromatografía de afinidad de los inmunoconjugados de la invención, puede utilizarse una matriz con proteína A o proteína G. La cromatografía de afinidad secuencial en proteína A o G y la cromatografía de exclusión por tamaño pueden utilizarse para aislar un 10 inmunoconjugado esencialmente como se describe en los Ejemplos. La pureza del inmunoconjugado puede determinarse mediante cualquiera de una serie de métodos analíticos bien conocidos, lo que incluye la electroforesis en gel, cromatografía líquida de alta presión y similares. Por ejemplo, se demostró que las proteínas de fusión de la cadena pesada expresadas como se describe en 15 los Ejemplos estaban intactas y correctamente ensambladas como se demostró mediante SDS-PAGE reductor (véase por ejemplo, la Figura 4). Se resolvieron tres bandas en pesos moleculares de aproximadamente 25.000, 50.000 y 60.000, que corresponden a los pesos moleculares previstos de la cadena ligera, la cadena pesada y la proteína de fusión de la cadena pesada/ porción efectora 20 de las inmunoglobulinas.

Ensayos

Los inmunoconjugados que aquí se proporcionan pueden identificarse, cribarse o caracterizarse por sus propiedades físicas/ químicas y/o actividades biológicas mediante varios ensayos conocidos en la materia.

25 *Ensayos de afinidad*

La afinidad del inmunoconjugado por un receptor de la porción efectora

(por ejemplo, IL-10R o varias formas de IL-2R), un receptor Fc o un antígeno diana, puede determinarse de acuerdo con los métodos que se indican en los Ejemplos mediante resonancia del plasmón en superficie (SPR), utilizando instrumentación estándar como un instrumento BIAcore (GE Healthcare), y

5 receptores o proteínas diana como pueden obtenerse mediante expresión recombinante. Alternativamente, la unión de inmunoconjugados a los diferentes receptores o antígenos diana puede evaluarse utilizando líneas celulares que expresan el receptor o antígeno diana particular, por ejemplo mediante citometría de flujo (FACS). Una realización específica de ejemplo ilustrativa para

10 la medida de la afinidad de unión se describe a continuación y en los siguientes Ejemplos.

De acuerdo con una realización, K_D se mide mediante resonancia del plasmón en superficie utilizando un equipo BIACORE® T100 (GE Healthcare) a 25°C con ligando (por ejemplo, receptor de la porción efectora,

15 receptor Fc o antígeno diana) inmovilizado sobre chips CM5. Brevemente, los chips biosensores de dextrano carboximetilado (CM5, GE Healthcare) se activaron con clorhidrato de N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS) de acuerdo con las instrucciones del distribuidor. El ligando recombinante se diluye con acetato sódico 10 mM, pH 5,5, de 0,5-30

20 $\mu\text{g/ml}$ antes de su inyección a una tasa de flujo de 10 $\mu\text{l/min}$ para alcanzar aproximadamente 100-5000 unidades de respuesta (RU) de proteína acoplada. Tras la inyección del ligando, se inyecta etanolamina 1 M para bloquear los grupos que no han reaccionado. Para las medidas cinéticas, se inyectan diluciones seriadas de tres a cinco veces de inmunoconjugado (rango entre

25 $\sim 0,01$ nM a 300 nM) en HBS-EP+ (GE Healthcare, HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, surfactante P20 al 0,05%, pH 7,4) a 25°C a una tasa de flujo de aproximadamente 30-50 $\mu\text{l/min}$. Las tasas de asociación (k_{on}) y tasas de disociación (k_{off}) se calcularon utilizando un modelo de unión de Langmuir simple

de uno a uno (programa de evaluación de BIACORE ® T100, versión 1.1.1) mediante el ajuste simultaneo de los sensogramas de asociación y disociación. La constante de disociación en el equilibrio (K_D) se calculó como la proporción entre k_{off}/k_{on} . Véase, por ejemplo, Chen et al., J Mol Biol 293, 865-881 (1999).

5 Ensayos de actividad

La actividad biológica de los inmunoconjugados de la invención puede medirse mediante varios ensayos como se describe en los Ejemplos. Las actividades biológicas pueden incluir por ejemplo la inducción de proliferación de las células portadoras del receptor de la porción efectora, la inducción de
10 señalización en las células portadoras del receptor de la porción efectora, la inducción de secreción de citoquinas por las células portadoras del receptor de la porción efectora y la inducción de regresión tumoral y/o la mejora de la supervivencia.

Composiciones, formulaciones y vías de administración

15 En un aspecto adicional, la invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de los inmunoconjugados que aquí se proporcionan, por ejemplo, para su utilización en cualquiera de los métodos terapéuticos a continuación. En una realización, una composición farmacéutica comprende cualquiera de los inmunoconjugados que aquí se proporcionan y un
20 transportador aceptable a nivel farmacéutico. En otra realización, una composición farmacéutica comprende cualquiera de los inmunoconjugados que aquí se proporcionan y al menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo, como se describe a continuación.

Además se proporciona un método para producir un inmunoconjugado de
25 la invención en una forma adecuada para su administración *in vivo*, y este método comprende (a) obtener un inmunoconjugado de acuerdo con la

invención, y (b) formular el inmunoconjugado con al menos un transportador aceptable a nivel farmacéutico, en el que una preparación de inmunoconjugado se formula para su administración *in vivo*.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden
5 una cantidad efectiva en el ámbito terapéutico de uno o más inmunoconjugados disueltos o dispersados en un transportador aceptable a nivel farmacéutico. Las frases "aceptable a nivel farmacéutico o farmacológico" se refiere a entidades moleculares y composiciones que en general son no tóxicas para los receptores a las dosis y concentraciones empleadas, es decir no producen una reacción
10 adversa, alérgica u otra no deseada cuando se administra a un animal, como, por ejemplo, un humano, según sea apropiado. La preparación de una composición farmacéutica que contiene al menos un inmunoconjugado y opcionalmente un ingrediente activo adicional serán conocidos por los expertos en la materia en relación a la presente descripción, como se ejemplifica en
15 Remington's Pharmaceuticals Sciences, 18^a Ed. Mack Printing Company, 1990, incorporada aquí como referencia. Además, para la administración animal (por ejemplo, humana), se entenderá que las preparaciones deben cumplir con los estándares de esterilidad, pirogenicidad, seguridad general y pureza requeridos por la oficina de la FDA de estándares biológicos o las autoridades
20 correspondientes en otros países. Las composiciones Preferibles son las formulaciones liofilizadas o las soluciones acuosas. Como se utiliza aquí, un "transportador aceptable a nivel farmacéutico" incluye cualquiera de entre todos los solventes, tampones, medios de dispersión, recubrimientos, surfactantes, antioxidantes, conservantes (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes que retrasan la absorción, sales,
25 conservantes, antioxidantes, proteínas, fármacos, estabilizantes de fármacos, polímeros, geles, enlazantes, excipientes, agentes de desintegración, lubricantes, agentes endulzantes, agentes aromatizantes, colorantes, como tales

materiales y en combinaciones de los mismos, como deben conocer los expertos en la materia (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceuticals Sciences, 18ª Ed. Mack Printing Company, 1990, págs. 1289-1329, incorporado aquí como referencia). Excepto en el caso de que cualquiera de los

5 transportadores convencionales sean incompatibles con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

La composición puede comprender diferentes tipos de transportadores dependiendo de si se va a administrar en forma sólida, líquida o en aerosol, y si debe ser estéril para tales vías de administración como la inyección. Los

10 inmunos conjugados de la presente invención (y cualquier agente terapéutico adicional) puede administrarse por vía intravenosa, intradérmica, intraarterial, intraperitoneal, intralesional, intracraneal, intraarticular, intraprostática, intraesplénica, intrarenal, intrapleural, intratraqueal, intranasal, intravitreal, intravaginal, intrarectal, intratumoral, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea,

15 subconjuntiva, intravesicular, mucosal, intrapericárdica, intraumbilical, intraocular, oral, tópica, local, por inhalación (por ejemplo, inhalación de aerosoles), inyección, infusión, infusión continua, baño de perfusión localizado directamente sobre las células diana, mediante un catéter, una irrigación, en cremas, en composiciones lipídicas (por ejemplo, liposomas), o mediante otro

20 método o cualquier combinación de los anteriores como es conocido para el experto en la materia (véase, por ejemplo, Remington's Farmacéuticas Sciences, 18ª Ed. Mack Printing Company, 1990, que se incorpora aquí como referencia). La administración por vía parenteral, en particular la inyección intravenosa, es la vía más común utilizada para la administración de moléculas

25 polipeptídicas como los inmunos conjugados de la invención.

Las composiciones parenterales incluyen aquellas diseñadas para su administración por inyección, por ejemplo, una inyección subcutánea,

intradérmica, intralesión, intravenosa, intraarterial, intramuscular, intratecal o intraperitoneal. Para la inyección, los inmunoconjugados de la invención pueden formularse en soluciones acuosas, preferiblemente en tampones fisiológicamente compatibles como la solución de Hanks, la solución de Ringer o el tampón salino fisiológico. La solución puede contener agentes de formulación como los agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Alternativamente, los inmunoconjugados pueden estar en forma de polvos para su reconstitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril libre de pirógenos, antes de su uso. Las soluciones estériles inyectables se preparan incorporando los inmunoconjugados de la invención en la cantidad necesaria en el solvente adecuado con varios del resto de ingredientes a continuación, según sea necesario. La esterilidad puede conseguirse fácilmente, por ejemplo, mediante la filtración a través de membranas de filtración estéril. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando los diferentes ingredientes activos esterilizados a un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y/o el resto de ingredientes. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, suspensiones o emulsiones, los métodos preferibles de preparación son las técnicas de secado al vacío o de liofilización que dan lugar a polvos del ingrediente activo además de cualquier ingrediente adicional deseado a partir de un medio líquido de los mismos, previamente filtrado de forma estéril. El medio líquido debe estar tamponado adecuadamente si es necesario y el diluyente líquido en primer lugar debe dejarse isotónico previamente a su inyección con suficiente salina o glucosa. La composición debe ser estable bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento, y preservarse protegido de la acción contaminante de microorganismos, como bacterias y hongos. Debe hacerse notar que la contaminación por endotoxinas debe mantenerse como mínimo a un nivel seguro, por ejemplo, inferior a 0,5 ng/mg de proteína. Los transportadores adecuados aceptables a nivel

- farmacéutico incluyen, pero no se limitan a: tampones como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos, antioxidantes, lo que incluye el ácido ascórbico y la metionina, conservantes (como cloruro de octadecil-dimetilbencilamonio, cloruro de hexametonio, cloruro de benzalconio, cloruro de benzetonio, fenol, alcohol de
- 5 butilo o bencilo, parabenos de alquilo como parabeno de metilo o propilo, catecol, resorcinol, ciclohexanol, 3-pentanol y m-cresol), polipéptidos de bajo peso molecular (inferiores a alrededor de 10 residuos), proteínas, como albúmina sérica, gelatina o inmunoglobulinas, polímeros hidrofílicos como la polivinilpirrolidona, aminoácidos como la glicina, glutamina, asparagina, histidina,
- 10 arginina o lisina, monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos, lo que incluye la glucosa, manosa o dextrinas, agentes quelantes como el EDTA, azúcares como la sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol, contraiones formadores de sales como el sodio, complejos metálicos (por ejemplo, complejos de Zn-proteína) y/o surfactantes no iónicos como el polietilenglicol
- 15 (PEG). Las suspensiones acuosas para inyección pueden contener compuestos que aumentan la viscosidad de la suspensión, como carboximetilcelulosa sódica, sorbitol, dextrano o similares. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes adecuados o agentes que aumentan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de soluciones altamente concentradas.
- 20 De forma adicional, las suspensiones de los compuestos activos pueden prepararse como suspensiones oleosas para inyección adecuadas. Los solventes o vehículos lipofílicos adecuados incluyen los aceites grasos como el aceite de sesamo, o los ésteres de ácidos grasos sintéticos, como los tacos de etilo o triglicéridos, o liposomas.
- 25 Los ingredientes activos pueden estar atrapados en microcápsulas preparadas, por ejemplo, mediante técnicas de coacervación o polimerización interfacial, por ejemplo, microcápsulas de hidroximetilcelulosa o gelatina y microcápsulas de poli-(metilmetacilato), respectivamente, en sistemas de

liberación de fármacos coloidales (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nano-partículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Tales técnicas se describen en Remington's Pharmaceuticals Sciences (18ª Ed. Mack Printing Company, 1990). Pueden prepararse

5 preparaciones de liberación continua. Ejemplos adecuados de preparaciones de liberación continua incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrofóbicos sólidos que contienen el polipéptido, y estando las matrices en forma de artículos moldeados, por ejemplo, películas o microcápsulas. En realizaciones particulares, puede conseguirse una absorción prolongada de una composición

10 inyectable utilizando en las composiciones de agentes retardantes de la absorción, como, por ejemplo, monoestearato de alúmina, gelatina o combinaciones de los mismos.

Además de las composiciones descritas previamente, también pueden formularse los inmunoconjugados como una preparación depot. Tales

15 formulaciones de larga duración pueden administrarse mediante la implantación (por ejemplo subcutánea o intramuscular) o mediante inyección intramuscular. Así, por ejemplo, los inmunoconjugados pueden formularse con materiales poliméricos o hidrofóbicos adecuados (por ejemplo como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados

20 escasamente solubles, por ejemplo, como una sal escasamente soluble.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden los inmunoconjugados de la invención pueden fabricarse mediante procesos convencionales de mezclado, disolución, emulsificado, encapsulado, atrapado o liofilizado. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse de forma

25 convencional utilizando uno o más transportadores fisiológicamente aceptables, diluyentes, excipientes o agentes auxiliares que facilitan el procesado de las proteínas en preparaciones que pueden utilizarse a nivel farmacéutico. La

formulación adecuada depende de la ruta de administración escogida.

Los inmunoconjugados pueden formularse en una composición en un ácido o base libre, en forma neutra o salina. Las sales aceptables a nivel farmacéutico son las sales que mantienen sustancialmente la actividad biológica del ácido o base libre. Estas incluyen las sales de adición ácida, por ejemplo, las formadas con los grupos amino libres de una composición proteica, o que se forman con ácidos inorgánicos como por ejemplo, los ácidos clorhídrico o fosfórico, o ácidos orgánicos tales como el acético, oxálico, tartárico o mandélico. Las sales formadas con los grupos carboxilo libres también pueden derivarse a partir de bases inorgánicas como por ejemplo, hidróxido sódico, potásico, amónico, cálcico o férrico; o bases orgánicas tales como isopropilamina, trimetilamina, histidina o procaína. Las sales farmacéuticas tienden a ser más solubles en solventes acuosos y otros solventes próticos que sus correspondientes formas en base libre.

15 **Métodos y composiciones terapéuticas**

Cualquiera de los inmunoconjugados que aquí se proporcionan pueden utilizarse en métodos terapéuticos. Los inmunoconjugados de la invención pueden utilizarse como agentes inmunoterapéuticos, por ejemplo en el tratamiento del cáncer.

20 Para su utilización en los métodos terapéuticos, los inmunoconjugados de la invención deben formularse, dosificarse y administrarse de forma consistente con las buenas prácticas médicas. Los factores en consideración en este contexto incluyen el trastorno concreto a tratar, el mamífero particular a tratar, la condición clínica de cada paciente individual, la causa del trastorno, el punto de liberación del agente, el método de administración, la programación de la administración y otros factores conocidos por los clínicos.

En un aspecto, se proporcionan los inmunoconjugados de la invención para su utilización como un medicamento. En otros aspectos, se proporcionan los inmunoconjugados de la invención para su utilización en el tratamiento de una enfermedad. En ciertas realizaciones, se proporcionan los

5 inmunoconjugados de la invención para su utilización en un método de tratamiento. En una realización, la invención proporciona un inmunoconjugado como el aquí descrito para su utilización en el tratamiento de una enfermedad en un individuo en necesidad del mismo. En ciertas realizaciones, la invención proporciona un inmunoconjugado para su utilización en el tratamiento de un

10 individuo con una enfermedad que comprende la administración del inmunoconjugado a un individuo de una cantidad efectiva en el ámbito terapéutico. En ciertas realizaciones, la enfermedad a tratar es un trastorno proliferativo. En una realización particular, la enfermedad es el cáncer. En otras realizaciones, la enfermedad a tratar es un trastorno inflamatorio. En ciertas

15 realizaciones, el método además comprende la administración al individuo de una cantidad efectiva en el ámbito terapéutico de al menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo, un agente anticanceroso si la enfermedad a tratar es el cáncer. Un "individuo" de acuerdo con cualquiera de las anteriores realizaciones es un mamífero, preferiblemente un humano.

20 En un aspecto adicional, la invención proporciona la utilización de un inmunoconjugado de la invención en la elaboración o preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad en un individuo en necesidad del mismo. En una realización, el medicamento es para su utilización en un método para el tratamiento de una enfermedad que comprende la

25 administración a un individuo con la enfermedad de una cantidad efectiva en el ámbito terapéutico del medicamento. En ciertas realizaciones, la enfermedad a tratar es un trastorno proliferativo. En una realización particular, la enfermedad es el cáncer. En otras realizaciones, la enfermedad a tratar es un trastorno

inflamatorio. En una realización, el método además comprende la administración al individuo de una cantidad efectiva en el ámbito terapéutico de al menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo, un agente anticanceroso si la enfermedad a tratar es el cáncer. Un "individuo" de acuerdo con cualquiera de las realizaciones anteriores puede ser un mamífero, preferiblemente un humano.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un método para el tratamiento de una enfermedad en un individuo, que comprende la administración a dicho individuo de una cantidad efectiva en el ámbito terapéutico de un inmunoconjugado de la invención. En una realización, se administra a dicho individuo una composición que comprende el inmunoconjugado de la invención en una forma aceptable en el ámbito terapéutico. En ciertas realizaciones la enfermedad a tratar es a trastorno proliferativo. En una realización particular, la enfermedad es el cáncer. En otras realizaciones, la enfermedad a tratar es un trastorno inflamatorio. En ciertas realizaciones, el método además comprende la administración al individuo de una cantidad efectiva en el ámbito terapéutico de al menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo, un agente anticanceroso si la enfermedad a tratar es el cáncer. Un "individuo" de acuerdo con cualquiera de las anteriores realizaciones puede ser un mamífero, preferiblemente un humano.

En ciertas realizaciones, la enfermedad a tratar es un trastorno proliferativo, en concreto el cáncer. Ejemplos no limitantes de tumores incluyen el cáncer de vejiga, cáncer de cerebro, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer ovárico, cáncer de útero, cáncer cervical, cáncer de endometrio, cáncer de esófago, cáncer de colon, cáncer colorectal, cáncer rectal, cáncer gástrico, cáncer de próstata, cáncer en la sangre, cáncer de piel, carcinoma de células escamosas, cáncer de huesos y cáncer de riñón. Otros trastornos de proliferación celular que pueden tratarse

utilizando un inmunoconjugado de la presente invención incluyen, pero no se limitan a las neoplasias localizadas en: abdomen, huesos, mama, sistema digestivo, hígado, páncreas, peritoneo, glándulas endocrinas (adrenal, paratiroidea, pituitaria, testículos, ovario, timo, tiroides), ojo, cabeza y cuello,

5 sistema nervioso (central y periférico), sistema linfático, pelvis, piel, tejidos blandos, bazo, región torácica y sistema urogenital. También se incluyen los trastornos precancerosos o las lesiones y metástasis cancerosas. En ciertas realizaciones, el cáncer se escoge de entre el grupo que consiste en cáncer de células renales, cáncer de piel, cáncer de pulmón, cáncer colorectal, cáncer de

10 mama, cáncer cerebral y cáncer de cabeza y cuello. En algunas realizaciones, en concreto cuando la porción efectora del inmunoconjugado es la IL-10, la enfermedad a tratar es un trastorno inflamatorio. Ejemplos no limitantes de trastornos inflamatorios incluyen la artritis reumatoide, psoriasis o enfermedad de Crohn. Un experto en la materia reconocerá fácilmente que en muchos casos

15 los inmunoconjugados pueden no proporcionar una cura sino sólo proporcionar un beneficio parcial. En algunas realizaciones, un cambio fisiológico con cierto beneficio también se considera beneficioso en el ámbito terapéutico. Por lo tanto, en algunas realizaciones, una cantidad de inmunoconjugado que proporciona un cambio fisiológico se considera una "cantidad efectiva" o una

20 "cantidad efectiva en el ámbito terapéutico". El sujeto, paciente o individuo en necesidad de tratamiento normalmente es un mamífero, más específicamente un humano.

Los inmunoconjugados de la invención también son útiles como reactivos diagnósticos. La unión de un inmunoconjugado a un determinante antigénico

25 puede detectarse fácilmente utilizando un anticuerpo secundario específico para la porción efectora. En una realización, el anticuerpo secundario y el inmunoconjugado facilitan la detección de la unión del inmunoconjugado a un determinante antigénico localizado sobre la superficie de una célula o tejido.

En algunas realizaciones, se administra a una célula una cantidad efectiva de un inmunoconjugado de la invención. En otras realizaciones, se administra una cantidad efectiva en el ámbito terapéutico de un inmunoconjugado de la invención a un individuo para el tratamiento de una enfermedad.

Para la prevención o tratamiento de una enfermedad, la dosificación adecuada de un inmunoconjugado de la invención (cuando se utiliza sólo o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales) dependerá del tipo de enfermedad a tratar, la vía de administración, el peso corporal del paciente, el tipo de inmunoconjugado, la gravedad y el curso de la enfermedad, si el inmunoconjugado se administra con propósitos preventivos o terapéuticos, intervenciones terapéuticas previas o concomitantes, la historia clínica del paciente y la respuesta al inmunoconjugado, y el criterio del clínico asistente. El clínico responsable de la administración determinará, en cualquier caso, la concentración de ingrediente(s) activo(s) en una composición y la dosis adecuada para el sujeto individual. Se contemplan varios patrones de dosificación, lo que incluye pero no se limita a las administraciones únicas o múltiples a lo largo de varios puntos temporales, administración en bolo y infusión impulsada.

El inmunoconjugado se administra adecuadamente al paciente de una vez o a lo largo de una serie de tratamientos. Dependiendo del tipo y gravedad de la enfermedad, alrededor de 1 $\mu\text{g/kg}$ a 15 mg/kg (por ejemplo, 0,1 mg/kg – 10 mg/kg) de inmunoconjugado puede ser una dosis candidata inicial para su administración al paciente, ya sea por ejemplo, mediante una o más administraciones separadas o mediante infusión continua. Una dosificación diaria habitual puede oscilar de alrededor de 1 $\mu\text{g/kg}$ a 100 mg/kg o superior, dependiendo de los factores anteriormente mencionados. Para administraciones

repetidas a lo largo de varios días o durante más tiempo, y dependiendo del trastorno, el tratamiento generalmente deberá mantenerse hasta que aparezca la supresión deseada de los síntomas de la enfermedad. Una dosificación de ejemplo del inmunoconjugado debe encontrarse en el rango de alrededor de

5 0,005 mg/kg a alrededor de 10 mg/kg. En otros ejemplos no limitantes, una dosis también pueden comprender de alrededor de 1 microgramos/kg peso corporal, alrededor de 5 microgramos/kg peso corporal, alrededor de 10 microgramos/kg peso corporal, alrededor de 50 microgramos/kg peso corporal, alrededor de 100 microgramos/kg peso corporal, alrededor de 200 microgramos/kg peso corporal,

10 alrededor de 350 microgramos/kg peso corporal, alrededor de 500 microgramos/kg peso corporal, alrededor de 1 miligramos/kg peso corporal, alrededor de 5 miligramos/kg peso corporal, alrededor de 10 miligramos/kg peso corporal, alrededor de 50 miligramos/kg peso corporal, alrededor de 100 miligramos/kg peso corporal, alrededor de 200 miligramos/kg peso corporal,

15 alrededor de 350 miligramos/kg peso corporal, alrededor de 500 miligramos/kg peso corporal, a alrededor de 1000 mg/kg peso corporal o más por administración, y cualquier rango derivable de los mismos. Como ejemplos no limitantes de un rango derivable de los números aquí proporcionados, puede administrarse un rango de alrededor de 5 mg/kg peso corporal a alrededor de

20 100 mg/kg peso corporal, alrededor de 5 microgramos/kg peso corporal a alrededor de 500 miligramos/kg peso corporal, etc., en base a los números descritos anteriormente. Por lo tanto, pueden administrarse una o más dosis de alrededor de 0,5 mg/kg, 2,0 mg/kg, 5,0 mg/kg o 10 mg/kg (o cualquier combinación de los mismos) al paciente. Tales dosis pueden administrarse de

25 forma intermitente, por ejemplo, cada semana o cada tres semanas (por ejemplo, de forma que el paciente recibe de alrededor de dos a alrededor de veinte, o por ejemplo, alrededor de seis dosis del inmunoconjugado). Puede administrarse una dosis inicial más elevada, seguida de una o más dosis más

reducidas. No obstante, otros regímenes de dosificación pueden ser útiles. El progreso de esta terapia se puede monitorizar fácilmente mediante técnicas y ensayos convencionales.

Los inmunoconjugados de la invención generalmente se utilizarán en una
5 cantidad efectiva para conseguir el propósito previsto. Para su utilización en el tratamiento o prevención de un trastorno patológico, los inmunoconjugados de la invención, o composiciones farmacéuticas de los mismos, se administran o se aplican en una cantidad efectiva en el ámbito terapéutico. La determinación de una cantidad efectiva en el ámbito terapéutico forma parte de las capacidades
10 de los expertos en la materia, especialmente en base a la descripción detallada que aquí se proporciona.

Para la administración sistémica, una dosis efectiva en el ámbito terapéutico puede estimarse inicialmente a partir de ensayos *in vitro*, como ensayos con cultivos celulares. Entonces puede formularse una dosis en
15 modelos animales para conseguir un rango de concentración circulante que incluya la CI_{50} según la determinación en cultivos celulares. Tal información puede utilizarse para determinar de forma más precisa las dosis útiles en humanos.

Las dosis iniciales también pueden estimarse a partir de datos *in vivo*, por
20 ejemplo modelos animales, utilizando técnicas que son bien conocidas en la materia. Un experto en la materia podrá optimizar fácilmente la administración a humanos en base los datos en animales.

La cantidad e intervalo de dosificación pueden ajustarse individualmente para proporcionar unos niveles en plasma de los inmunoconjugados que son
25 suficientes para mantener un efecto terapéutico. Las dosis habituales de los paciente para una administración por inyección oscila entre alrededor de 0,1 y

50 mg/kg/día, normalmente de alrededor de 0,5 a 1 mg/kg/día. Los niveles en plasma efectivos en el ámbito terapéutico pueden alcanzarse mediante la administración de dosis múltiples diarias. Los niveles en plasma pueden medirse, por ejemplo, mediante HPLC.

- 5 En los casos de administración local o entrada selectiva, la concentración efectiva local de los inmunoconjugados puede no estar relacionada con la concentración en plasma. Un experto en la materia será capaz de optimizar la dosis local efectiva en el ámbito terapéutico sin experimentación indebida.

- Una dosis efectiva en el ámbito terapéutico de los inmunoconjugados
- 10 aquí descritos generalmente proporcionarán un beneficio terapéutico sin causar una toxicidad sustancial. La toxicidad y la eficacia terapéutica de un inmunoconjugado pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales de experimentación. Los ensayos en cultivos celulares y estudios en animales pueden utilizarse para determinar la
- 15 DL_{50} (la dosis letal para el 50% de una población) y la DE_{50} (la dosis efectiva en el ámbito terapéutico en el 50% de una población). La proporción entre las dosis con efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico, que puede expresarse como la proporción DL_{50}/DE_{50} . Los inmunoconjugados que muestran índices terapéutico elevados son preferibles. En una realización, el
- 20 inmunoconjugado de acuerdo con la presente invención muestra un índice terapéutico elevado. Los datos obtenidos a partir de ensayos en cultivos celulares y estudios animales pueden utilizarse en la formulación de un rango de dosis adecuado para su utilización en humanos. La dosis preferiblemente se encuentra dentro de un rango de concentraciones circulantes que incluye la
- 25 DE_{50} con poca o ninguna toxicidad. La dosis puede variar dentro de este rango dependiendo de una serie de factores, por ejemplo, la forma de dosificación utilizada, la vía de administración utilizada, el estado del sujeto y similares. Cada

clínico individual puede escoger una formulación exacta, la vía de administración y la dosis en función del estado del paciente (véase, por ejemplo, Fingl et al., 1975, en: The Pharmacological Basis of Therapeutics, Cap. 1, pág. 1, incorporado aquí como referencia en su totalidad).

- 5 El clínico asistente de los pacientes tratados con inmunoconjugados de la invención debe conocer cómo y cuándo finalizar, interrumpir o ajustar la administración debido a toxicidad, disfunción de órganos y similares. Y por el contrario, el clínico asistente también debe conocer la forma de ajustar el tratamiento a niveles superiores si la respuesta clínica no fuera la adecuada
- 10 (evitando la toxicidad). La magnitud de una dosis administrada en la gestión de un trastorno de interés variará con la gravedad del trastorno a tratar, con la vía de administración y similares. La gravedad de un trastorno puede evaluarse en parte, por ejemplo, mediante métodos de evaluación pronóstico estándar. Además, la dosis y quizás la frecuencia de dosificación también variarán de
- 15 acuerdo con la edad, peso corporal y respuesta de cada paciente individual.

Otros agentes y tratamientos

- Los inmunoconjugados de la invención pueden administrarse en combinación con uno o más agentes distintos en una terapia. Por ejemplo, un inmunoconjugado de la invención puede coadministrarse con al menos un
- 20 agente terapéutico adicional. El término "agente terapéutico" incluye cualquier agente administrado para tratar un síntoma o enfermedad en un individuo en necesidad de tal tratamiento. Tales agentes terapéuticos adicionales pueden comprender cualquier ingrediente activo adecuado para la indicación particular a tratar, preferiblemente aquellos con actividades complementarias y que no se
- 25 afectan de forma adversa entre ellos. En ciertas realizaciones, un agente terapéutico adicional es un agente inmunomodulador, un agente citostático, un inhibidor de la adhesión celular, un agente citotóxico, un activador de la

apoptosis celular, o un agente que aumenta la sensibilidad de las células a los inductores apoptóticos. En una realización particular, el agente terapéutico adicional es un agente anticanceroso, por ejemplo un disruptor de los microtúbulos, un antimetabolito, un inhibidor de la topoisomerasa, un agente intercalante del DNA, un agente alquilante, una terapia hormonal, un inhibidor de las quinasas, un antagonista de receptor, un activador de la apoptosis de las células tumorales o un agente antiangiogénico.

Tales agentes adicionales están presentes en una combinación adecuada en cantidades que son efectivas para el propósito previsto. La cantidad efectiva de tales agentes adicionales dependerá de la cantidad de inmunoconjugado utilizado, el tipo de enfermedad o tratamiento, y otros factores anteriormente discutidos. Generalmente los inmunoconjugados se utilizan en las mismas dosis y por las mismas vías de administración aquí descritas, o alrededor de entre el 1 y el 99% de las dosis aquí descritas, o en cualquier dosis y mediante cualquier vía que se determine empíricamente/ clínicamente que es apropiada.

Tales terapias de combinación anteriormente mencionadas incluyen la administración combinada (en la que dos o más agentes terapéuticos se incluyen en la misma o en composiciones separadas) y la administración separada, en cuyo caso, la administración del inmunoconjugado de la invención puede ocurrir previamente, simultáneamente y/o secuencialmente a la administración del agente terapéutico adicional y/o adyuvante. Los inmunoconjugados de la invención también pueden utilizarse en combinación con la terapia de radiación.

Artículos de elaboración

En otro aspecto de la invención, se proporciona un artículo de elaboración que contiene materiales útiles para el tratamiento, prevención y/o diagnóstico de

los trastornos descritos anteriormente. El artículo de elaboración comprende un contenedor y una etiqueta o prospecto sobre o asociada al contenedor. Los contenedores adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, viales, jeringas, bolsas de solución IV, etc. Los contenedores pueden estar fabricados a partir de una serie de materiales como el vidrio o plástico. El contenedor contiene una composición que es, por sí misma o junto con otra composición, efectiva para el tratamiento, prevención y/o diagnóstico del trastorno y puede poseer un puerto de acceso estéril (por ejemplo el contenedor puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial con un obturador perforable mediante una aguja de inyección hipodérmica). Al menos un agente activo en la composición es un inmunconjugado de la invención. La etiqueta o prospecto indica que la composición se utiliza para tratar la enfermedad escogida. Además, el artículo de elaboración puede comprender (a) un primer contenedor con una composición contenida, en el que la composición comprende un inmunconjugado de la invención; y (b) un segundo contenedor con una composición contenida, en el que la composición comprende un agente terapéutico citotóxico o de otro tipo adicional. El artículo de elaboración en esta realización de la invención además puede comprender un prospecto que indica que las composiciones pueden utilizarse para tratar una enfermedad particular. Alternativamente, o de forma adicional, el artículo de elaboración además puede comprender un segundo (o tercer) contenedor que comprende un tampón aceptable a nivel farmacéutico, como agua bacteriostática para inyección (BWFI), salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. Además puede incluir otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y del usuario, lo que incluye otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos se relacionan con los métodos y composiciones de la invención. Se entenderá que pueden llevarse a la práctica otras muchas realizaciones, dada la descripción general proporcionada anteriormente.

Ejemplo 1

5 Métodos generales

Técnicas de DNA recombinante

Se utilizaron métodos estándar para manipular el DNA, como los descritos en Sambrook et al., Molecular cloning: A laboratory manual; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989. Se
10 utilizaron los reactivos de biología molecular de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La información general respecto a las secuencias de nucleótido de las cadenas ligeras y pesadas de las inmunoglobulinas humanas se proporciona en: Kabat, E.A. et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª Ed., N° de Publicación NIH 91-3242.

15 Secuenciación de DNA

Las secuencias de DNA se determinaron mediante secuenciación de doble cadena.

Síntesis génica

Los segmentos génicos deseados, cuando era necesario, se generaron
20 mediante PCR utilizando los moldes apropiados o se sintetizaron mediante Geneart AG (Regensburg, Alemania) a partir de oligonucleótidos sintéticos y productos de PCR mediante síntesis génica automatizada. En los casos en los que no se dispone de una secuencia génica exacta, se diseñaron oligonucleótidos cebadores basados en las secuencias de los homólogos más

cercanos y los genes se aislaron mediante RT-PCR a partir de RNA que se origina a partir del tejido apropiado. Los segmentos génicos flanqueados por dianas singulares de escisión de endonucleasas de restricción se clonaron en vectores de clonaje/ secuenciación estándar. El DNA plasmídico se purificó a
5 partir de las bacterias transformadas y se determinó la concentración mediante espectroscopía UV. La secuencia de DNA de los fragmentos génicos subclonados se confirmó mediante secuenciación de DNA. Los segmentos génicos se diseñaron con las dianas de restricción adecuadas que permitieron el subclonaje en los respectivos vectores de expresión. Todas las construcciones
10 se diseñaron con una secuencia de DNA en el extremo 5' que codificaba un péptido líder que marca las proteínas para su secreción en las células eucariotas. Los Id. de Sec. N° 8-16 proporcionan ejemplos de péptidos líder y de las secuencias de polinucleótidos que los codifica.

Preparación de fusiones de la subunidad $\beta\gamma$ de IL-2R - Fc y de la
15 **subunidad α de IL-2R - Fc**

Para estudiar la afinidad de unión del receptor IL-2, se generó una herramienta que permitió la expresión de un receptor heterodimérico IL-2: se fusionó la subunidad β del receptor IL-2 con una molécula Fc que se había modificado para que heterodimerizara (Fc(ojal)) (véanse los Id. de Sec. N° 17 y
20 18) utilizando la tecnología de "botón en ojal" (Merchant et al., Nat Biotech. 16, 677-681 (1998)). La subunidad γ del receptor IL-2 se fusionó entonces con la variante Fc(botón) (véanse los Id. de Sec. N° 19 y 20), que heterodimerizó con el Fc(ojal). Esta proteína de fusión Fc heterodimérica se utilizó entonces como sustrato para analizar la interacción del receptor IL-2/IL-2. La subunidad α de IL-
25 2R se expresó como una cadena monomérica con una diana de escisión AcTev y una cola de Avi His (Id. de Sec. N° 21 y 22). Las respectivas subunidades del IL-2R se expresaron de forma transitoria en HEK EBNA 293 con suero para la

construcción de la subunidad $\beta\gamma$ del IL-2R y sin suero para la construcción de la subunidad α . La construcción de la subunidad $\beta\gamma$ del IL-2R se purificó en proteína A (GE Healthcare), seguido por una cromatografía de exclusión por tamaño (GE Healthcare, Superdex 200). La subunidad α del IL-2R se purificó
5 mediante la cola de His en una columna NiNTA (Qiagen) seguido de una cromatografía de exclusión por tamaño (GE Healthcare, Superdex 75). Las secuencias de aminoácodos y los correspondientes nucleótidos de varias construcciones de receptores se proporcionan en los Id. de Sec. N° 17-22 y 255-268.

10 **Preparación de inmunoconjugados**

Los detalles sobre la generación y maduración de la afinidad de las porciones de unión de antígeno dirigidas a FAP pueden encontrarse en los Ejemplos adjuntos a la publicación de solicitud de patente PCT N° WO 2012/020006, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad. Como allí
15 se describe, se han generado varios dominios de unión al antígeno dirigidos contra FAP mediante exposición en fagos, lo que incluye los denominados 4G8, 28H1 y 4B9 utilizados en los siguientes ejemplos. El clon 28H1 es un anticuerpo con maduración de la afinidad basado en el clon parental 4G8, mientras el clon 4B9 es un anticuerpo con maduración de la afinidad basado en el clon parental
20 3F2. El dominio de unión al antígeno denominado 2B10 utilizado aquí está dirigido contra el dominio A2 de la tenascina C (TNC A2). Detalles alrededor de ésta y otras porciones de unión al antígeno dirigidas contra TNC A2 pueden encontrarse en la publicación de solicitud de patente PCT N° WO 2012/020038, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad. El dominio de unión a
25 antígeno denominado L19, dirigido contra el dominio extra B (EDB) de la fibronectina se deriva a partir del anticuerpo L19 descrito en la publicación PCT WO 2007/128563. Los dominios de unión a antígeno denominados CH1A1A y

CH1A1A 98/99 2F1 utilizados aquí están dirigidos contra CEA, y se describen en más detalle en la solicitud de patente PCT N° PCT/PE 2012/051991, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

El cuádruple mutante de IL-2 (qm) que se utiliza como porción efectora en algunos de los siguientes ejemplos se describe en detalle en la solicitud de patente PCT N° PCT/PE2012/051991, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad. Brevemente, el IL-2 qm se caracteriza por las siguientes mutaciones:

1. T3A – carece de diana de O-glucosilación prevista
2. F42A - carece de interacción IL-2/IL-2R α
3. Y45A - carece de interacción IL-2/IL-2R α
4. L72G - carece de interacción IL-2/IL-2R α
5. C125A - mutación para evitar los dímeros IL-2 unidos por puentes disulfuro

Se escogió la mutación T3A para eliminar el lugar de O-glucosilación y obtener un producto proteico con una mayor homogeneidad y pureza cuando se expresa el polipéptido IL-2 qm o un inmunoconjugado que lo comprende en células eucariotas como las células CHO o HEK293. Las tres mutaciones F42A, Y45A y L72G se escogieron para que interfirieran con la unión a CD25, la subunidad α del receptor IL-2. Una reducción o eliminación de la unión a CD25 resulta en reducción de la muerte celular inducida por la activación (AICD), ausencia de activación preferente de las células T reguladoras, así como toxicidad reducida (como se describe en la PE 11153964.9).

Las secuencias de DNA se generaron mediante síntesis génica y/o técnicas de biología molecular clásica y se subclonaron en vectores de expresión de mamíferos bajo el control de un promotor MPSV y río arriba de un

punto de poliA sintético, conteniendo cada vector una secuencia OriP del EBV. Los inmunoconjugados tal y como se aplican en los ejemplos a continuación se obtuvieron mediante la cotransfección de células HEK293-EBNA en crecimiento exponencial con vectores de expresión de mamíferos utilizando la transfección con fosfato cálcico. Alternativamente, las células HEK293 creciendo en suspensión se transfectaron mediante polietilenimina (PEI) con los respectivos vectores de expresión. Alternativamente, las agrupaciones de células CHO transfectadas de forma estable o los clones de células CHO se utilizaron para la producción en medios libres de suero. A continuación, las proteínas de fusión IgG-citoquina se purificaron a partir del sobrenadante. Brevemente, las proteínas de fusión IgG-citoquina se purificaron mediante un paso de afinidad con proteína A (HiTrap ProtA, GE Healthcare) equilibrada en fosfato sódico 20 mM, citrato sódico 20 mM a pH 7,5. Tras cargar el sobrenadante, la columna se lavó en primer lugar con fosfato sódico 20 mM, citrato sódico 20 mM, pH 7,5 y a continuación se lavó con fosfato sódico 13,3 mM, citrato sódico 20 mM, cloruro sódico 500 mM, pH 5,45. La proteína de fusión IgG-citoquina se eluyó con citrato sódico 20 mM, cloruro sódico 100 mM, glicina 100 mM, pH 3. Las fracciones se neutralizaron y se agruparon y purificaron mediante cromatografía de exclusión por tamaño (HiLoad 16/60 Superdex 200, GE Healthcare) en el tampón final de la formulación: fosfato potásico 25 mM, cloruro sódico 125 mM, glicina 100 mM a pH 6,7. Ejemplos detallados de los procedimientos de purificación y los resultados se proporcionan para las construcciones seleccionadas a continuación. La concentración de proteína de las muestras de proteína purificada se determinaron mediante la medida de la densidad óptica (DO) a 280 nm, utilizando el coeficiente de extinción molar calculado en base a la secuencia de aminoácidos. La pureza y el peso molecular de los inmunoconjugados se analizó mediante SDS-PAGE en presencia y ausencia de un agente reductor (1,4-ditiotreitol 5 mM) y se realizó una tinción con azul de Coomassie

(SimpleBlue™ SafeStain, Invitrogen). Se utilizó el sistema de geles preparados NuPAGE® (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante (geles del 4-20% Tris-glicina o del 3-12% Bis-Tris). El contenido de agregados de las muestras de inmunoconjugado se analizó utilizando una columna analítica de exclusión por tamaño Superdex 200 10/300GL (GE Healthcare) en tampón de cromatografía MOPS 2 mM, NaCl 150 mM, NaN₃ al 0,02%, pH 7,3 a 25°C. La integridad del esqueleto de aminoácidos de las cadenas ligeras y pesadas del anticuerpo reducidas puede verificarse mediante espectrometría de masas por nanoelectropulverización Q-TOF tras la eliminación de N-glicanos mediante un tratamiento enzimático con la glucosidasa F de péptido-N (Roche Molecular Biochemicals). Los oligosacáridos unidos al dominio Fc de los inmunoconjugados se analizan mediante MALDI TOF-MS como se describe a continuación. Los oligosacáridos se liberan enzimáticamente a partir de los inmunoconjugados mediante la digestión con PNGasa F. La solución de digestión resultante que contiene los oligosacáridos liberados se prepara directamente para el análisis MALDI TOF-MS o se digiere además con glucosidasa EndoH previamente a la preparación de la muestra para el análisis de MALDI TOF-MS.

Ejemplo 2

Las proteínas de fusión IgG-IL-2 qm dirigidas contra FAP se generaron en base a los anticuerpos FAP 4G8, 28H1 y 4B9, en el que un único mutante cuádruple (qm) de IL-2 se fusionó con el extremo C-terminal de una cadena pesada heterodimérica como la que se muestra en la FIGURA 2A. La focalización hacia el estroma tumoral en el que FAP se expresa selectivamente se consigue mediante la región Fab bivalente del anticuerpo (efecto de avidéz). La heterodimerización resultante en presencia de un único mutante cuádruple de IL-2 se consigue mediante la aplicación de la tecnología de botón en ojal. Para

minimizar la generación de fusiones homodiméricas IgG-citoquina, la citoquina se fusionó al extremo C-terminal (con una delección del residuo de Lys C-terminal) de la cadena pesada de IgG que contiene el botón a través de un enlazante $(G_4S)_3$ o $G_4-(SG_4)_2$. La fusión anticuerpo-citoquina tiene propiedades similares a una IgG. Para reducir la unión a FcγR/ función efectora y evitar la co-activación de FcR, se introdujeron las mutaciones P329G L234A L235A (LALA) en el dominio Fc. Las secuencias de estos inmunoconjugados se proporcionan en los Id. de Sec. N° 193, 269 y 205 (28H1 con enlazante $(G_4S)_3$), Id. de Sec. N° 193, 195 y 205 (28H1 con enlazante $G_4-(SG_4)_2$), Id. de Sec. N° 201, 203 y 205 (4G8 con enlazante $G_4-(SG_4)_2$), Id. de Sec. N° 207, 209 y 211 (4B9 con enlazante $G_4-(SG_4)_2$), Id. de Sec. N° 207, 271 y 211 (4B9 con enlazante $(G_4S)_3$).

Además, se generaron una proteína de fusión IgG-IL-2 qm dirigida contra CEA en base al anticuerpo anti-CEA CH1A1A 98/99 2F1, una proteína de fusión IgG-IL-2 qm no dirigida DP47GS control, en la que la IgG no se une a una diana específica, así como una proteína de fusión IgG-IL-2 qm basada en 2B10 específico de estroma tumoral dirigida contra el dominio A2 de la tenascina C. Las secuencias de estos inmunoconjugados se proporcionan en los Id. de Sec. N° 275, 281 y 283 (CH1A1A 98/99 2F1 con enlazante $G_4-(SG_4)_2$), Id. de Sec. N° 277, 281 y 283 (CH1A1A 98/99 2F1 con enlazante $(G_4S)_3$), Id. de Sec. N° 219, 221 y 225 (DP47GS con enlazante $G_4-(SG_4)_2$), Id. de Sec. N° 219, 289 y 225 (DP47GS con enlazante $(G_4S)_3$), Id. de Sec. N° 285, 287 y 239 (2B10 con enlazante $(G_4S)_3$). Las construcciones se generaron mediante la expresión transitoria en células HEK293 EBNA y se purificaron como se ha descrito anteriormente. Las Figuras 3 a 9 muestran ejemplos de cromatogramas y los perfiles de elución de la purificación (A, B) así como el SDS-PAGE analítico y las cromatografías de exclusión por tamaño de las construcciones purificadas finales (C, D). Los rendimientos de expresión transitoria fueron 42 mg/L para el inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 4G8, 20 mg/L para el basado en

28H1, 10 mg/L para el basado en 4B9, 5,3 mg/L para el basado en CH1A1A 98/99 2F1, 36,7 mg/L para el basado en 2B10 y 13,8 mg/L para el basado en DP47GS.

Además, se generó un inmunoconjugado IgG-IL-15 dirigido contra FAP
 5 basado en 28H1, cuyas secuencias se proporcionan en los Id. de Sec. N° 193, 199 y 205. En la secuencia polipeptídica de IL-15 el residuo de ácido glutámico en la posición 53 se reemplaza por alanina para reducir la unión a la subunidad α del receptor de IL-15, y el residuo de asparagina en la posición 79 está reemplazado por alanina para evitar la glucosilación. La proteína de fusión IgG-
 10 IL-15 se generó mediante expresión transitoria y se purificó como se ha descrito anteriormente.

Afinidad de unión a FAP

La actividad de unión a FAP de los inmunoconjugados IgG-IL-2 qm en base a los anticuerpos anti-FAP 4G8 y 28H1 se determinaron mediante
 15 resonancia del plasmón en superficie (SPR) en un equipo Biacore comparándola con la de los anticuerpos IgG no modificados correspondientes. Brevemente, un anticuerpo anti-His (Penta-His, Qiagen 34660) se inmovilizó sobre chips CM5 para capturar FAP humano con una cola de His 10 nM (20 s). La temperatura fue de 25°C y se utilizó HBS-EP como tampón. La concentración de analito fue
 20 de 50 nM disminuyéndola hasta 0,05 nM a una tasa de flujo de 50 μ l/min. (asociación: 300 s, disociación: 900 s, regeneración: 60 s con glicina 10 mM pH 2). El ajuste se realizó en base a un modelo de unión 1:1, RI = 0, Rmax = local (a causa del formato de captura). La siguiente tabla proporciona las afinidades de aparentes estimadas bivalentes (avidez pM) según se determinaron mediante
 25 SPR ajustada con una unión 1:1, RI = 0, Rmax = local.

	Hu FAP

4G8 IgG-IL-2 qm	100 pM
4G8 IgG	50 pM
28H1 IgG-IL-2 qm	175 pM
28H1 IgG	200 pM

Los datos muestran que dentro del error del método, la afinidad por el FAP humano se retiene en el inmunoconjugado basado en el 28H1 o sólo disminuye ligeramente en el inmunoconjugado basado en el 4G8 en comparación con los anticuerpos correspondientes no modificados.

- 5 De forma similar, la afinidad (KD) de 4B9 IgG-IL-2 qm (16 pM), CH1A1A 98/99 2F1 IgG-IL-2 qm (400 pM), CH1A1A 98/99 2F1 IgG-IL-2 wt (véase el Ejemplo 4; 470 pM) y 2B10 IgG-IL-2 qm (150 pM, vs. 300 pM para 2B10 IgG no conjugada) hacia FAP, CEA y TNC A2 humano, respectivamente, se determinaron mediante SPR a 25°C. También se confirmó la reactividad cruzada
- 10 de los anticuerpos 4B9 y 2B10 hacia FAP o TNC A2 humana, murina y de cynomolgus, respectivamente.

- A continuación, se determinó la afinidad de los inmunoconjugados IgG-IL-2 qm basados en 4G8 y 28H1 con el heterodímero IL-2R $\beta\gamma$ y la subunidad α de IL-2R mediante resonancia del plasmón en superficie (SPR) en comparación
- 15 directa con el formato de inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab descrito en la solicitud de patente PCT N° PCT/PE2012/051991. Brevemente, los ligandos, es decir la subunidad α de la IL-2R humana o el heterodímero $\beta\gamma$ del IL-2R humano se inmovilizaron sobre un chip CM5. A continuación, los inmunoconjugados IgG-IL-2 qm basados en 4G8 y 28H1 o los inmunoconjugados Fab-IL-2 qm-Fab
- 20 basados en 4G8 y 28H1 se aplicaron para su comparación sobre el chip como analitos a 25°C en tampón HBS-EP en concentraciones que oscilaron entre 300 nM bajando hasta 1,2 nM (dil. 1:3). La tasa de flujo fue de 30 μ l/min. y las

condiciones siguientes se aplicaron para la asociación: 180 s, disociación: 300 s, y regeneración: 2 x 30 s con MgCl_2 3 M para el heterodímero $\beta\gamma$ del IL-2R, 10 s con NaOH 50 mM para la subunidad α del IL-2R. Se utilizó una unión 1:1 para el ajuste (unión 1:1, $\text{RI} \neq 0$, $\text{R}_{\text{max}} = \text{local}$ para $\beta\gamma$ de IL-2R, K_D aparente, unión 1:1, $\text{RI} = 0$, $\text{R}_{\text{max}} = \text{local}$ para IL-2R α). Los correspondientes valores de K_D se proporcionan en la tabla a continuación.

K_D aparente [nM]	Hu $\beta\gamma$ IL-2R	Hu IL-2R α
4G8 IgG-IL-2 qm	5,9	Sin unión
4G8 Fab-IL-2 qm-Fab	10,4	Sin unión
28H1 IgG-IL-2 qm	6,2	Sin unión
28H1 Fab-IL-2 qm-Fab	11,4	Sin unión

Los datos muestran que los inmunoconjugados IgG-IL-2 qm basados en 4G8 y 28H1 se unen con una afinidad al menos tan buena como los inmunoconjugados Fab-IL-2 qm-Fab al heterodímero $\beta\gamma$ de IL-2R, mientras que no se unen a la subunidad α de IL-2R debido a la introducción de las mutaciones que interfieren con la unión a CD25. En comparación con los respectivos inmunoconjugados Fab-IL-2 qm-Fab, la afinidad de las proteínas de fusión IgG-IL-2 qm parece ser ligeramente mejor dentro del error del método.

De forma similar, la afinidad de otras construcciones (4B9, DP47GS, 2B10, CH1A1A 98/99 2F1) que comprenden IL-2 wt (véase Ejemplo 4) o IL-2 qm hacia el heterodímero de IL-2R $\beta\gamma$ y la subunidad α de IL-2R se determinó mediante SPR a 25°C. Para todas las construcciones la K_D aparente para el heterodímero de IL-2R $\beta\gamma$ humano estaba entre 6 y 12 nM (independientemente de si la construcción comprende IL-2 wt o IL-2 qm), mientras que solo las construcciones que comprenden IL-2 wt no se unen a la subunidad α de IL-2R en absoluto (K_D para IL-2R α humano alrededor de 20 nM).

Ensayos de actividad biológica con inmunoconjugados IgG-citoquina

La actividad biológica de las fusiones IgG-IL-2 qm basadas en 4G8 dirigidas contra FAP se investigó en varios ensayos celulares en comparación
5 con la IL-2 disponible a nivel comercial (Proleuquina, Novartis/Chiron) y/o los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab descritos en la PE 11153964.9.

Unión a células que expresan FAP

La unión del inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 4G8 dirigido contra FAP al FAP humano expresado sobre células HEK293 transfectadas de forma
10 estable se midió mediante FACS. Brevemente, se incubaron 250.000 células por pocillo con la concentración indicada del inmunoconjugado en una placa de 96 pocillos de fondo redondeado, se incubaron durante 30 min. a 4°C, y se lavaron una vez con PBS/ BSA al 0,1%. El inmunoconjugado unido se detectó tras una incubación de 30 min. a 4°C con un fragmento F(ab')₂ AffiniPure de cabra
15 conjugado con FITC, específico anti-F(ab')₂ humano (Jackson Immuno Research Lab N° 109-096-097, solución de trabajo: dilución 1:20 en PBS/ BSA al 0,1%, recién preparada) utilizando un FACS Cantoll (Software FACS Diva). Los resultados se muestran en la FIGURA 10. Los datos muestran que el inmunoconjugado IgG-IL-2 qm se une a las células que expresan FAP con un
20 valor de CE50 de 0,9 nM, comparable con la de la construcción correspondiente Fab-IL-2 qm-Fab basada en 4G8 (0,7 nM).

Liberación de IFN-γ por las células NK (en solución)

A continuación, se estudió con el inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 4G8 dirigido contra FAP la inducción de liberación de IFN-γ por las células
25 NK92, inducida por la activación de la señalización de IL-2R βγ. Brevemente, se incubaron células NK92 privadas de IL-2 (100.000 células/ pocillo en una placa

de 96-U-pocillos) con diferentes concentraciones del inmunoconjugado IL-2, que comprende el cuádruple mutante de IL-2, durante 24 h en medio NK (MEM alfa de Invitrogen (#22561-021) suplementado con FCS al 10%, suero de caballo al 10%, 2-mercaptoetanol 0,1 mM, inositol 0,2 mM y ácido fólico 0,02 mM). Se

5 recogieron los sobrenadantes y se analizó la liberación de IFN- γ utilizando el equipo de ELISA anti-IFN- γ humano II de Becton Dickinson (#550612). Proleuquina (Novartis) y Fab-IL-2 qm-Fab basado en 28H1 sirvieron como controles positivos de la activación de las células mediada por IL-2. La FIGURA 11 muestra que el inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 4G8 dirigido contra

10 FAP es igual de eficaz en la inducción de la liberación de IFN- γ que el inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab basado en 28H1 madurado por afinidad.

Ensayo de fosforilación de STAT5

En un último grupo de experimentos se estudiaron los efectos del inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 4G8 dirigido contra FAP sobre la

15 inducción de la fosforilación de STAT5 en comparación con los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab y Fab-IL-2 qm-Fab basados en 28H1, así como Proleuquina sobre células NK humanas, células T CD4⁺, células T CD8⁺ y células T_{reg} de CMSP humanas. Brevemente, se extrajo sangre de voluntarios sanos en jeringas que contienen heparina y se aislaron las CMSP. Las CMSP se

20 trataron con los inmunoconjugados indicados a las concentraciones indicadas o con Proleuquina (Novartis) como control. Tras 20 min. de incubación a 37°C, las CMSP se fijaron con tampón Cytofix precalentado (Becton Dickinson N° 554655) durante 10 min. a 37°C, seguido por una permeabilización con tampón Phosflow Perm III (Becton Dickinson N° 558050) durante 30 min. a 4°C. Las células se

25 lavaron dos veces con PBS que contenía BSA al 0,1% antes de realizar su tinción FACS utilizando mezclas de anticuerpos de citometría de flujo para la detección de diferentes poblaciones de células y de la fosforilación de STAT5.

Las muestras se analizaron utilizando un FACSCantoll con HTS de Becton Dickinson. Las células NK se definieron como $CD3^{-}CD56^{+}$, las células T CD8 positivas se definieron como $CD3^{+}CD8^{+}$, las células T CD4 positivas se definieron como $CD4^{+}CD25^{-}CD127^{+}$ y las células T_{reg} se definieron como $CD4^{+}$

5 $CD25^{+}FoxP3^{+}$. Para las células NK y células T $CD8^{+}$ que no muestran o muestran una expresión muy reducida de CD25 (que significa que la señalización de IL-2R está mediada principalmente a través del heterodímero $\beta\gamma$ de IL-2R), los resultados mostraron que el inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 4G8 era <10 veces menos potente en la inducción de la fosforilación

10 de STAT5 que Proleuquina, pero ligeramente más potente que los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab y Fab-IL-2 qm-Fab basados en 28H1. Sobre las células T $CD4^{+}$, que muestran una rápida regulación positiva de CD25 hacia la estimulación, el inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 4G8 era menos potente que el inmunoconjugado Fab-IL-2-Fab 28H1, pero ligeramente más

15 potente que el inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab 28H1, y seguía mostrando una inducción de la señalización de IL-2R a concentraciones de saturación comparable a Proleuquina y al Fab-IL-2-Fab 28H1. Esto contrasta con las células T_{reg} , en las que la potencia del inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 4G8 estaba significativamente reducida en comparación con la del

20 inmunoconjugado Fab-IL-2-Fab debido a la elevada expresión de CD25 sobre las células T_{reg} y la baja afinidad de unión del inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 4G8 a CD25. Como consecuencia de la eliminación de unión a CD25 en los inmunoconjugados IgG-IL-2 qm basados en 4G8, la señalización IL-2 en las células T_{reg} sólo se activa a través del heterodímero $\beta\gamma$ de IL-2R a

25 concentraciones en las que la señalización de IL-2R está activada en células efectoras CD25-negativas a través del heterodímero $\beta\gamma$ de IL-2R. En conjunto, el inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 4G8 descrito aquí es capaz de activar la señalización de IL-2R a través del heterodímero $\beta\gamma$ de IL-2R, pero no resulta

en una estimulación preferente de las células T_{reg} sobre otras células efectoras. Los resultados de estos experimentos se muestran en la FIGURA 12.

Unión de 2B10 IgG-IL-2 qm a células que expresan TNC A2

La unión del inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 2B10 dirigido
 5 contra TNC A2 al TNC A2 humano expresado sobre células U87MG se midió
 mediante FACS. Brevemente, se incubaron 200.000 células por pocillo con la
 concentración indicada del inmunoconjugado en una placa de 96 pocillos de
 fondo redondeado, durante 30 min. a 4°C, y se lavaron dos veces con PBS/ BSA
 al 0,1%. El inmunoconjugado unido se detectó tras una incubación de 30 min. a
 10 4°C con un fragmento AffiniPure F(ab')₂ de cabra conjugado con FITC,
 específico anti IgG Fcy humano (Jackson Immuno Research Lab N° 109-096-
 098, solución de trabajo: dilución 1:20 en PBS/ BSA al 0,1%, recién preparada)
 utilizando un FACS Cantoll (Software FACS Diva). Los resultados se muestran
 en la FIGURA 13. Los datos muestran que el inmunoconjugado 2B10 IgG-IL-2
 15 qm se une igualmente bien a las células U87MG que expresan TNC A2 como al
 correspondiente IgG no conjugado.

Inducción de proliferación de células NK92 mediante inmunoconjugados de IgG-IL-2

Se analizaron los inmunoconjugados de 2B10 IgG-IL-2 qm, CH1A1A
 20 98/99 2F1 IgG-IL-2 qm, CH1A1A 98/99 2F1 IgG-IL-2 wt, 4B9 IgG-IL-2 qm y 4B9
 IgG-IL-2 wt por su capacidad de inducir la proliferación de células NK92. Para
 los ensayos de proliferación, las células NK92 se incubaron en medio libre de IL-
 2 durante 2 horas, se sembraron 10000 células/pocillo en una placa de suelo
 redondeado de 96 pocillos y después se incubaron durante 3 días en un
 25 incubador humidificado a 37°C, CO₂ 5% en presencia de los inmunoconjugados
 de IL-2 (). Tras 3 días, el contenido de ATP de los lisados celulares se midió

utilizando el ensayo de viabilidad de células luminiscentes CellTiter-Glo de Promega (#G7571/2/3). El porcentaje de crecimiento se calculó ajustando una concentración de proleuquina (Novartis) de 1,1 mg/ml a una proliferación de 100 % y células sin tratar sin estímulo de IL-2 hasta una proliferación de 0 %. Los resultados se muestran en la Figura 14 y 15. Los datos muestran que todas las construcciones fueron capaces de inducir la proliferación de células NK92, siendo las construcciones basadas en CH1A1A más activas que el inmunocóncugado 2B10 IgG-IL-2 qm, y las construcciones que comprenden IL-2 wt siendo más activas que las correspondientes construcciones con IL-2 qm.

10 Ejemplo 3

En general, las mutaciones P329G LALA que impiden casi completamente la interacción del FcγR de los anticuerpos IgG₁ humanos (véase la solicitud de patente europea N° PE 11160251.2, incorporada aquí como referencia en su totalidad) se introdujeron en orden para reducir la unión a FcγR/ función efectora y por lo tanto evitar una liberación excesiva de citoquina cuando los respectivos receptores de citoquinas se coactivaran con la señalización de FcγR. En casos específicos, por ejemplo cuando el anticuerpo está dirigido a antígeno altamente específico de tumor, las funciones efectoras de Fc pueden retenerse utilizando un dominio Fc de la IgG no modificado o puede incluso adicionalmente mejorarse mediante glucomodificaciones del dominio Fc de la IgG.

Como ejemplo del mismo, se generó un inmunocóncugado IgG-IL-2 qm dirigido contra CEA en el que se fusionó un único mutante cuádruple de la IL-2 al extremo C-terminal de una cadena pesada heterodimérica a través de un enlazante (SG₄)₃ en base al clon CH1A1A del anticuerpo anti-CEA. En este inmunocóncugado, la mutación P329G LALA no se incluyó (véase las secuencias de Id. de Sec. N° 227, 229 y 231). El inmunocóncugado se expresó y se purificó

como una IgG humana salvaje o una proteína de fusión IgG-IL-2 qm glucomodificada como se describe a continuación.

Preparación de inmunoconjugado IgG-IL-2 qm (glucomodificado)

- El inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en CH1A1A dirigido contra CEA
- 5 se produjo mediante la cotransfección de células HEK293-EBNA con vectores de expresión de anticuerpos de mamífero. Las células HEK293-EBNA en crecimiento exponencial se transfectaron mediante el método de fosfato cálcico. Alternativamente, las células HEK293 creciendo en suspensión se transfectaron mediante polietilenimina. Para la producción de inmunoconjugado IgG-IL-2 qm
- 10 no modificado y no glucomodificado, las células se transfectaron sólo con los vectores de expresión de las cadenas pesada y ligera del anticuerpo en una proporción 1:1 (en el que el vector de la cadena pesada de anticuerpo es una mezcla 1:1 de dos vectores: un vector para la cadena pesada con la porción efectora, y un vector para la cadena pesada sin porción efectora).
- 15 Para la producción del inmunoconjugado IgG-IL-2 qm glucomodificado dirigido contra CEA, las células se cotransfectaron con dos plásmidos adicionales, uno para la expresión de un polipéptido de fusión GnTIII (un vector de expresión de GnT-III), y uno para la expresión de manosidasa II (un vector de expresión de la manosidasa II de Golgi) a una proporción de 4:4:1:1,
- 20 respectivamente. Las células se hacen crecer en cultivos monocapa adherentes en frascos T utilizando medio de cultivo DMEM suplementado con FCS al 10%, y se transfectaron cuando se encontraban en un confluente de entre el 50 y 80%. Para la transfección de un frasco T150, se sembraron 15 millones de células 24 horas antes de la transfección en 25 ml de medio de cultivo DMEM
- 25 suplementado con FCS (al 10% v/v final), y las células se situaron en un incubador a 37°C con una atmósfera de CO₂ al 5% durante toda la noche. Para cada frasco T150 a transfectar, se preparó una solución de DNA, CaCl₂ y agua

mezclando 94 µg de DNA del vector plasmídico total dividido equitativamente entre los vectores de expresión de la cadena ligera y la cadena pesada, agua hasta un volumen final de 469 µl, y 469 µl de una solución de CaCl₂ 1M. A esta solución, se añadieron 938 µl de una solución de HEPES 50 mM, NaCl 280 mM, Na₂HPO₄ 1,5 mM a pH 7,05, se mezclaron inmediatamente durante 10 s. y se dejaron reposar a temperatura ambiente durante 20 s. La suspensión se diluyó con 10 ml de DMEM suplementado con FCS al 2%, y se añadió al frasco T150 en lugar del medio existente. Luego se añadieron 13 ml adicionales de medio de transfección. Las células se incubaron a 37°C, CO₂ al 5% durante alrededor de 17 a 20 horas, antes del reemplazo del medio por 25 ml de DMEM, FCS al 10%. El medio de cultivo acondicionado se recogió aproximadamente 7 días tras el intercambio de medios mediante centrifugación durante 15 min. a 210 x g. La solución se filtró de forma estéril (filtro de 0,22 µm) y se añadió azida sódica en una concentración final del 0,01% p/v, y se mantuvo a 4°C.

Los inmunoconjugados IgG-IL-2 qm dirigidos contra CEA salvajes o glucomodificados secretados se purificaron a partir de los sobrenadantes de cultivos celulares mediante cromatografía de afinidad utilizando una cromatografía de afinidad con proteína A, seguido de un paso de cromatografía de exclusión por tamaño en una columna HiLoad Superdex 200 (GE Healthcare) como se ha descrito anteriormente. La concentración, pureza, peso molecular, contenido de agregados e integridad de la proteína se analizaron como se ha descrito anteriormente.

Análisis de la estructura de oligosacárido (glucomodificado) del inmunoconjugado IgG-IL-2 qm

Para la determinación de las proporciones relativas de las estructuras de oligosacárido que contienen fucosa y no fucosiladas, los glicanos liberados del material inmunoconjugado purificado se analizaron mediante espectrometría de

masas MALDI TOF. La muestra de inmunoconjugado (alrededor de 50 µg) se incubó durante la noche a 37°C con 5 mU de N-glucosidasa F (QAbio; PNGaseF: E-PNG01) en Tris 2 mM, pH 7,0, para liberar el oligosacárido de la estructura de proteína. Para la desaminación de glicanos, se añadió ácido acético a una concentración final de 150 mM y se incubó durante 1h a 37°C. Para el análisis por espectrometría de masas MALDI TOF, 2 µL de la muestra se mezclaron en la diana MALDI con 2 µL de solución de matriz DHB (ácido 2,5-dihidroxibenzoico [Bruker Daltonics #201346] disueltos en etanol 50% / NaCl 5 mM a 4 mg/ml) y se analizaron con el espectrómetro de masas MALDI TOF Autoflex II (Bruker Daltonics). Por rutina, se registraron 50-300 tomas y se resumieron en un único experimento. El espectro obtenido se evaluó mediante el programa de análisis flex (Bruker Daltonics) y se determinaron las masas para cada uno de los picos detectados. Posteriormente, los picos se asignaron a las estructuras de carbohidratos que contienen fucosa o no fucosilados comparando las masas calculadas y las masas teóricas esperadas para las correspondientes estructuras (por ejemplo, complejo, híbrido y oligo- o alta-manosa, respectivamente, con y sin fucosa).

Para la determinación de la proporción de estructuras híbridas, las muestras de anticuerpo se digirieron con N-glucosidasa F y Endo-glucosidasa H [QAbio; EndoH: E-EH02] de forma concomitante. La N-glucosidasa F libera todas las estructuras glicano N-unidas (estructuras acomplejadas, híbridas y oligo- o alta-manosa) de la estructura de proteína y la Endo-glucosidasa H escinde todos los glicanos de tipo híbrido de forma adicional entre los dos residuos de N-acetilglucosamina (GlcNAc) en el extremo reductor del glicano. Esta digestión se trata posteriormente y se analiza mediante espectrometría de masas MALDI TOF de la misma manera que la que se ha descrito anteriormente para la muestra digerida con N-glucosidasa F. Al comparar el patrón de la digestión de N-glucosidasa F y la digestión combinada de N-glucosidasa F /

Endo H, el grado de reducción de las señales de una estructura de carbohidratos específica se utiliza para estimar el contenido relativo de estructuras híbridas. La cantidad relativa de cada estructura de carbohidratos se calculó a partir de la proporción de altura del pico de una estructura individual y la suma de las alturas de los picos de todos los oligosacáridos detectados. La cantidad de fucosa es el porcentaje de estructuras que contienen fucosa en relación a todas las estructuras de carbohidratos identificadas en la muestra tratada con N-glucosidasa F (por ejemplo, estructuras acomplejadas, híbridas y oligo- o alta-manosa). El grado de no fucosilación es el porcentaje de estructuras que carecen de fucosa en relación a todos los carbohidratos identificados en la muestra tratada con N-glucosidasa F (por ejemplo, estructuras acomplejadas, híbridas y oligo- o alta-manosa).

Ensayo de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos

Los inmunoconjugados CH1A1A IgG-IL-2 qm dirigidos contra CEA de tipo salvaje y glucomodificadas se compararon en ensayos de CCDA por su potencial de mediar citotoxicidad celular dirigida por anticuerpo. En resumen, las células tumorales humanas A549 que sobreexpresan CEA como células diana se recogieron, lavaron y resuspendieron en medio de cultivo, se tiñeron con Calceina AM recién preparada (Molecular Probes) a 37°C durante 30 min, se lavaron tres veces, se contaron y se diluyeron a 300 000 células/ml. Esta suspensión se transfirió a una placa de 96 pocillos de fondo redondeado (30000 células/pocillo), la correspondiente dilución de inmunoconjugado se añadió y se incubó durante 10 min para permitir la unión del inmunoconjugado a analizar a las células antes de entrar en contacto con las células efectoras. La proporción de efector respecto a la diana es de 25 a 1 para CMSP recién aisladas. La coincubación se realizó durante 4 horas. Se utilizaron dos sistemas diferentes de lectura: la liberación de lactato deshidrogenasa (LDH) en el sobrenadante tras la

desintegración de las células atacadas, y la retención de Calceina en las células vivas restantes. Se recogió la LDH del sobrenadante del cocultivo y se analizó con un equipo de detección de LDH (Roche Applied Science). La conversión de sustrato mediante la enzima LDH se midió con un lector de absorbancias de ELISA (programa SoftMaxPro, longitudes de onda de referencia: 490 nm versus 650 nm). La Calceina residual en las células vivas se analizó en un lector de fluorescencia (Contador Wallac VICTOR3 1420 Multilabel (Perkin Elmer)) tras eliminar el resto del sobrenadante de las células centrifugadas, un paso de lavado en PBS antes de la lisis, y la fijación de las células mediante tampón borato (borato 50 mM, Triton 0,1%).

La Figura 16 muestra el resultado basado en la detección de LDH. Se obtuvo un resultado similar en base a la retención de calceina (no se muestra). Ambas construcciones fueron capaces de mediar la CCDA, la construcción glucomodificada fue similarmente activa a la correspondiente IgG glucomodificada no conjugada. Tal como se esperaba, la construcción no glucomodificada mostró una actividad reducida en comparación con la construcción glucomodificada.

Ejemplo 4

Se generaron inmunoconjugados IgG-IL-2 dirigidos contra FAP basados en 28H1 o 4B9, dirigidos contra CEA basados en CH1A1A 98/99 2F1 y un inmunoconjugado IgG-IL-2 basado en DP47GS no dirigido, en los que un único polipéptido de IL-2 de tipo salvaje que está fusionado al extremo C-terminal de una cadena pesada heterodimérica. La heterodimerización que resulta en un inmunoconjugado con una porción única de IL-2 se logró mediante la aplicación de la tecnología de botón en ojal. Para minimizar la generación de proteínas de fusión IgG-IL-2 homodiméricas, la citoquina se fusionó a la cadena pesada que contenía el botón (con delección del residuo Lys C-terminal) mediante un

5 enlazante $G_4-(SG_4)_2$ o un enlazante $(G_4S)_3$. Las secuencias de estos
 inmunconjugados se proporcionan en los Id. de Sec. N° 193, 197 y 205 (28H1
 con un enlazante $G_4-(SG_4)_2$), Id. de Sec. N° 207, 273 y 211 (4B9 con un
 enlazante $(G_4S)_3$), Id. de Sec. N° 277, 279 y 283 (CH1A1A 98/99 2F1 con un
 10 enlazante $(G_4S)_3$), Id. de Sec. N° 219, 223 y 225 (DP47GS con un enlazante G_4-
 $(SG_4)_2$), Id. de Sec. N° 219, 293 y 225 (DP47GS con un enlazante $(G_4S)_3$). La
 fusión anticuerpo-citoquina posee propiedades similares a IgG. Para reducir la
 unión/función efectora de FcγR y prevenir la coactivación de FcR, se
 introdujeron mutaciones P329G LALA en el dominio Fc. Ambas construcciones
 15 se purificaron de acuerdo con los métodos descritos anteriormente. La
 purificación final se realizó mediante cromatografía de exclusión por tamaño
 (HiLoad 26/60 Superdex 200, GE Healthcare) en el tampón de la formulación
 final de 20 mM histidina, 140 mM cloruro de sodio a pH 6. Las Figuras 17 a 20
 muestran los correspondientes cromatogramas y los perfiles de elución de la
 20 purificación (A, B) así como el análisis por SDS-PAGE y las cromatografías de
 exclusión por tamaño de las construcciones finales purificadas (C, D). La
 producción fue de 15,6 mg/L de inmunconjugado DP47GS IgG-IL-2 no dirigido,
 26,7 mg/ml para el inmunconjugado 28H1 IgG-IL-2, 4,6 mg/ml para el
 inmunconjugado CH1A1A 98/99 2F1 IgG-IL-2, y 11 mg/ml el inmunconjugado
 25 4B9 IgG-IL-2.

Posteriormente, se determinaron sus propiedades de unión a FAP,
 respectivamente la falta de unión, así como la unión a la cadena IL-2R βγ y IL-
 2R α mediante SPR tal como se descrito anteriormente. La actividad celular
 sobre las poblaciones de células inmunoefectoras y los efectos
 25 farmacodinámicos in vivo se estudiaron posteriormente.

Ejemplo 5

Los inmunconjugados IgG-IL-10 basados en 4G8 dirigidos contra FAP

así como los inmunoconjugados basados en 2B10 dirigidos contra TNC A2 se construyeron mediante la fusión de dos formatos de citoquina IL-10 diferentes al extremo C-terminal de la cadena pesada de la IgG heterodimérica que comprende una modificación en ojal: ya sea una IL-10 de cadena única en el

5 que se ha insertado un enlazante 20-mero ($(G_4S)_4$) entre dos moléculas de IL-10, o una IL-10 monomérica modificada (Josephson et al., J Biol Chem 275, 13552-7 (2000)). Ambas moléculas se fusionaron mediante un enlazante 15-mero ($(G_4S)_3$) al extremo C-terminal de la cadena pesada que comprende una modificación en ojal, con la delección del residuo Lys del extremo C-terminal. La

10 heterodimerización resultante en tan solo una cadena pesada portadora de una porción IL-10 se logró mediante la aplicación de la tecnología de botón en ojal. La fusión IgG-citoquina posee propiedades similares a IgG. Para reducir la unión/función efectora de Fc γ R y prevenir la coactivación de FcR, se introdujeron mutaciones P329G LALA en el dominio Fc del inmunoconjugado.

15 Las secuencias de las correspondientes construcciones se proporcionan en los Id. de Sec. N° 233, 235 y 239 (2B10 con scIL-10), Id. de Sec. N° 233, 237 y 239 (2B10 con IL-10 monomérica "IL-10M1"), Id. de Sec. N° 241, 243 y 205 (4G8 con scIL-10), Id. de Sec. N° 241, 245 y 205 (4G8 con IL-10M1). Todos estos inmunoconjugados se purificaron de acuerdo con los métodos descritos

20 anteriormente. Posteriormente, sus propiedades de unión a FAP o TNC A2, respectivamente, así como sus afinidades a IL-10R1 humana se determinaron mediante SPR utilizando el biosensor ProteOn XPR36. En resumen, las dianas FAP o TNC A2 así como IL-10R1 humana se inmovilizaron en orientación vertical sobre la superficie del sensor del chip (FAP mediante acoplamiento

25 estándar de amina, TNC A2 e IL-10R1 humano (ambos biotinilados mediante una cola de avi en C-terminal) mediante captura por neutravidina). Posteriormente, los inmunoconjugados IgG-IL-10 se inyectaron a seis concentraciones diferentes, lo que incluye una concentración cero, como

analitos en orientación horizontal. Tras una doble referencia, los sensorgramas se ajustaron a un modelo de interacción 1:1 para determinar las constantes de tasa cinética y afinidades. Los resultados del análisis SDS PAGE y las determinaciones de afinidad a antígeno diana basadas en SPR así como al receptor IL-10 se muestran en las Figuras 21 y 22. Los datos muestran que los inmunconjugados se unen a TNC A2 o FAP con valores de K_D de 52 o 26 pM, respectivamente, mientras que los valores de K_D para el receptor de IL-10 son 520 y 815 pM.

Ejemplo 6

De acuerdo con los métodos descritos anteriormente, las proteínas de fusión IgG-citoquina se generaron y se expresaron consistiendo en una región Fab única basada en 28H1 o basada en 4B9 dirigida contra FAP fusionada al extremo N-terminal de una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación en ojal, mientras que la segunda región Fab de la cadena pesada de IgG con la modificación en botón estaba sustituida por una porción de citoquina mediante un enlazante $(G_4S)_n$ ($n=1$). Véase la FIGURA 2C para una representación esquemática de este formato de inmunconjugado (también denominado formato “1+1”). Las porciones de citoquina utilizadas fueron los mutantes cuádruples de IL-2 descritos anteriormente y en la solicitud de patente Europea PCT/PE2012/051991 (véase Id. de Sec. N°: 3), IL-7 e IFN- γ . Las secuencias correspondientes de los polipéptidos de fusión que comprenden la porción de citoquina, fusionada con el extremo N-terminal de una subunidad del dominio Fc que comprende una modificación en botón mediante un péptido enlazante, se proporcionan en la Tabla 4 (véase Id. de Sec. N° 247 (que comprende el cuádruple mutante de IL-2), 249 (que comprende IL-7) y 251 (que comprende IFN- γ). En estas construcciones, la unión del inmunconjugado se logra mediante la región Fab de alta afinidad monovalente. Este formato puede

recomendarse en los casos en los que la internalización del antígeno puede reducirse utilizando un enlazante monovalente. Los inmunoconjugados se produjeron, purificaron y analizaron tal como se ha descrito anteriormente. Para las construcciones que comprenden la IL-2 qm o IL-7, se combinaron la

5 cromatografía de afinidad con proteína A y la cromatografía de exclusión por tamaño en una único ensayo. Se utilizó histidina 20 mM, NaCl 140 mM a pH 6,0 como tampón de la cromatografía de exclusión por tamaño y de formulación final. Las Figuras 23-26 muestran los perfiles de elución y los cromatogramas de las purificaciones así como el SDS-PAGE analítico y los cromatogramas de

10 exclusión por tamaño de las construcciones purificadas finales. Los rendimientos fueron de 11 mg/L para las construcciones 4B9 “1+1” IgG-IL-2 qm, 43 mg/L para 28H1 “1+1” IgG-IL-2 qm, 20,5 mg/L para 4B9 “1+1” IgG-IL-7 y 10,5 mg/L para 4B9 “1+1” IgG-IFN- α .

Se testó la capacidad de las construcciones “1+1” que comprenden la IL-

15 2 qm de inducir la proliferación de las células NK, comparada con la de los inmunoconjugados IgG-IL-2 qm. Las células NK-92 se privaron durante 2 h antes de sembrarlas a 10.000 células/ pocillo en placas negras planas de fondo claro de 96 pocillos. Los inmunoconjugados se titularon en las células NK-92 sembradas. Tras 72 h, el contenido de ATP se midió para determinar el número

20 de células viables utilizando el equipo “CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay” (Promega) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La Figura 27 muestra que las construcciones “1+1” son capaces de inducir la proliferación de las células NK-92, siendo ligeramente menos activas que las construcciones correspondientes IgG-IL-2 qm. Se analizó la capacidad de las construcciones

25 “1+1” basadas en 4B9 que comprenden la IL-2 qm o IL-7 de inducir la proliferación de las células T, comparada con la de los inmunoconjugados IgG-IL-2. Se prepararon células mononucleares de sangre periférica (CMSP) utilizando Histopaque-1077 (Sigma Diagnostics Inc., St. Louis, MO, USA).

Brevemente, sangre de la capa leucoplaquetar se diluyó 5:1 con PBS libre de calcio y magnesio, y se capeó sobre Histopaque-1077. El gradiente se centrifugó a 450 x g durante 30 min. a temperatura ambiente (TA) sin freno. La interfase que contiene las CMSP se recogió y se lavó tres veces con PBS (350 x g
 5 seguido de 300 x g durante 10 min. a TA). Las CMSP se preestimularon con 1 µg/ml PHA-M (Sigma Aldrich N° L8902) durante toda la noche, antes de ser marcadas con CFSE (éster de succinimidilo de carboxi-fluoresceína) 100 nM durante 15 min. a 37°C. Las células se lavaron con 20 ml de medio antes de recubrir las CMSP marcadas durante 30 min. a 37°C. Las células se lavaron, se
 10 contaron y 100.000 células se sembraron en placas de 96-pocillos de fondo en U. Los inmunoconjugados se titularon sobre las células sembradas durante un tiempo de incubación de 6 días. a partir de ese momento, las células se lavaron, se realizó una tinción con los marcadores de superficie celular apropiados y se analizaron mediante FACS utilizando un BD FACSCantoll. Las células T CD4 se
 15 definieron como CD3+/CD8-, y las células T CD8 como CD3+/CD8+.

La Figura 28 muestra que las construcciones “1+1” que comprenden la IL-2 qm o IL-7 son capaces de inducir la proliferación de las células T CD4 (A) y CD8 (B) activadas con PHA. Como para las células NK, la construcción “1+1” que comprende la IL-2 qm es ligeramente menos activa que la construcción IgG-
 20 IL-2 qm.

Se analizó la capacidad de la construcción “1+1” basada en 4B9 que comprende el IFN-α de inhibir la proliferación de las células Daudi, comparado con la de Roferon A (Roche). Brevemente, las células Daudi se marcaron con CFSE 100 nM y se sembraron en una placa de fondo en U de 96 pocillos
 25 (50.000 células/ pocillo). Las moléculas se añadieron a las concentraciones indicadas, seguido de una incubación de 3 días a 37°C. La proliferación se midió analizando la dilución de CFSE, excluyendo las células muertas del análisis

utilizando una tinción vital. La Figura 29 muestra que la construcción era capaz de inhibir la proliferación de las células Daudi, al menos de forma tan potente como el Roferon A.

Ejemplo 7

5 Se realizó un estudio de farmacocinética (PK) de dosis única en ratones 129 inmunocompetentes libres de tumores de los immunoconjugados IgG-IL2 dirigidos contra FAP que comprenden la IL-2 salvaje o el cuádruple mutante, y los immunoconjugados IgG-IL-2 no dirigidos que comprenden la IL-2 salvaje o el cuádruple mutante.

10 Se mantuvieron ratones hembra 129 (Harlan, Reino Unido), de 8-9 semanas de edad al inicio del experimento, bajo condiciones libres de patógenos específicos con ciclos diarios de 12 h de luz/ 12 h de oscuridad de acuerdo con las guías utilizadas (GV-Solas; Felasa; TierschG). El protocolo de estudio experimental fue revisado y aprobado por las autoridades locales (P
15 2008016). Tras su llegada, los animales se mantuvieron durante una semana acostumbrándose al nuevo ambiente y en observación. Se realizó una continua y regular monitorización de su salud.

Se inyectó a los ratones por vía i.v. una vez con 28H1 IgG-IL2 wt dirigido contra FAP (2,5 mg/kg) o 28H1 IgG-IL2 qm (5 mg/kg), o DP47GS IgG-IL2 wt no
20 dirigido (5 mg/kg) o DP47GS IgG-IL2 qm (5 mg/kg). A todos los ratones se les inyectaron por vía i.v. 200 µl de la solución apropiada. Para obtener la cantidad adecuada de immunoconjugado por 200 µl, las soluciones de reserva se diluyeron con PBS según era necesario.

Se extrajo sangre de los ratones a las 1, 8, 24, 48, 72 y 96 h, y cada 2
25 días a partir de ese punto durante 3 semanas. Los sueros se extrajeron y almacenaron a -20°C hasta su análisis por ELISA. Las concentraciones de

inmunoconjugado en suero se determinaron utilizando un ELISA para la cuantificación del anticuerpo del inmunoconjugado IL-2 (Roche-Penzberg). La absorción se midió utilizando una longitud de onda de medida de 405 nm y una longitud de onda de referencia de 492 nm (lector de microplaca ajustable 5 VersaMax, Molecular Devices).

La Figura 30 muestra la farmacocinética de estos inmunoconjugados IL-2. Tanto las construcciones IgG-IL2 qm dirigidas contra FAP (A) como no dirigidas (B) poseen una vida media en suero más larga (aprox. 30 h) que las construcciones IgG-IL-2 wt correspondientes (aprox. 15 h). Debe hacerse notar 10 que aunque las condiciones experimentales no son directamente comparables, la vida media en suero de los inmunoconjugados de IL-2 de la invención parece ser mayor que la vida media en suero de los inmunoconjugados “2+2” de IgG-IL-2 (véase la Figura 1) conocidos en la materia como se describen por ejemplo en Gillies et al., Clin Cancer Res 8, 210-216 (2002).

Compuesto	Dosis	Tampón de formulación	Concentración (mg/mL)
28H1-IgG-IL2 wt	2,5 mg/kg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	3,84(= solución de reserva)
28H1-IgG-IL2 qm	5 mg/kg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	2,42(= solución de reserva)
DP47GS-IgG-IL2 wt	5 mg/kg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	3,74(= solución de reserva)
DP47GS-IgG-IL2QM	5 mg/kg	Histidina 20 mM, NaCl 140 mM, pH 6,0	5,87(= solución de reserva)

Ejemplo 8

Se realizó un estudio de biodistribución para valorar si los inmunokonjugados de la invención se dirigían contra los tumores. Se comparó el IgG-IL-2 qm basado en 28H1 dirigido contra FAP con la IgG 28H1 no conjugada
 5 dirigida contra FAP y la IgG 4B9, y con la IgG DP47GS no dirigida. Además, se realizó un estudio de imagen SPECT/CT con IgG-IL-2 qm 4B9, comparado con IgG-IL-2 qm DP47GS, IgG 4B9 y IgG DP47GS.

Conjugación de DTPA y marcaje con ^{111}In

Las soluciones de IgG-IL-2 qm 28H1, IgG1 28H1, IgG-IL-2 qm 4B9, IgG1
 10 4B9 y IgG1 DP47 se dializaron contra salina tamponada con fosfato (PBS, 15 mM). Dos mg de las construcciones (5 mg/ml) se conjugaron con ácido isotiocianatobencil-dietilentríaminopentaacético (ITC-DTPA, Macrocyclis, Dallas, TX) en NaHCO_3 0,1 M, pH 8,2, bajo condiciones libres de metales estrictas, mediante una incubación con un exceso molar de 5 veces de ITC-DTPA durante
 15 una hora a temperatura ambiente (TA). Se eliminó el ITC-DTPA no conjugado mediante diálisis contra tampón de ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico (MES) 0,1 M, pH 5,5.

Los conjugados purificados se radiomarcaron mediante una incubación con ^{111}In (Covidien BV, Petten, Holanda) en tampón MES 0,1 M, pH 5,5 que
 20 contenía albúmina sérica bovina (BSA) al 0,05% y Tween-80 al 0,05%, a TA, bajo condiciones libres de metales estrictas durante 30 min. Tras el radiomarcaje se añadió ácido etilendiamino-tetraacético (EDTA) hasta una concentración final de 5 mM para quelar el ^{111}In no unido. Los productos marcados con ^{111}In se purificaron mediante filtración en gel en columnas G25M fungibles (PD10,
 25 Amersham Biosciences, Uppsala, Suecia). La pureza radioquímica de las construcciones purificadas marcadas con ^{111}In se determinó mediante una

cromatografía en capa fina inmediata (ITLC) sobre tiras de cromatografía TEC Control (Biodex, Shirley, NY), utilizando tampón citrato 0,1 M, pH 6,0, como fase móvil. La actividad específica de las preparaciones marcadas con ^{111}In fue de 0,6 – 4,6 MBq/ μg .

5 Ensayo Lindmo

La fracción inmunoreactiva de las preparaciones de anticuerpo marcadas con ^{111}In se determinó como se ha descrito previamente (Lindmo et al. (1984) J Immunol Methods 72, 77-89). Brevemente, una serie de diluciones seriadas de células de riñón embrionario humano (HEK) transfectadas con el cDNA de la proteína de activación de los fibroblastos (FAP) (células HEK-FAP) se incubaron con 200 Bq de la construcción marcada con ^{111}In a 37°C durante 1 hora. Se incubó un duplicado de la menor concentración celular en presencia de un exceso de la construcción no marcada para corregir la unión no específica. Tras la incubación, las células se lavaron, se centrifugaron y se determinó la radioactividad asociada a las células en el botón celular en un contador gamma (Wallac Wizzard 3" 1480 contador y automático, Pharmacia LKB). La fracción inmunoreactiva de las preparaciones osciló entre un 75-94%.

Animales

Se adquirieron ratones hembra desnudos BALB/c (8-9 semanas, +/- 20 g) de Janvier y se mantuvieron en las instalaciones centrales para animales del Radboud University Nijmegen Medical Centre bajo condiciones estándar con 5 animales en jaulas ventiladas de forma individual con acceso sin restricciones al alimento y el agua. Tras una semana de aclimatación los animales se inocularon por vía s.c. con 10×10^6 células HEK-FAP in matrigel (1:3) en el flanco izquierdo y opcionalmente con 5×10^6 células HEK-293 en matrigel (1:3) en el flanco derecho. El crecimiento del xenoinjerto se monitorizó mediante medidas con un

pie de rey (volumen = $(4/3 \cdot \pi) \cdot (1/2 \cdot \text{longitud}) \cdot (1/2 \cdot \text{ancho}) \cdot (1/2 \cdot \text{alto})$). Cuando los xenoinjertos alcanzaron un volumen de 100 mm³, se inyectó a los ratones por vía i.v. las construcciones marcadas con ¹¹¹In.

Biodistribución (IgG-IL-2 qm 28H1, IgG1 28H1, IgG1 4B9 y IgG1DP47GS)

- 5 Las construcciones marcadas con ¹¹¹In (5 MBq, 150 µg, 200 µl) se inyectaron por vía i.v. a través de la vena de la cola. Veinticuatro horas tras la inyección los animales se eutanasiaron por asfixia en una atmósfera de CO₂/ O₂. Se recogieron la sangre, músculo, xenoinjerto, pulmones, bazo, páncreas, riñones, estómago (vacío), duodeno (vacío) y el hígado, se pesaron y se
- 10 determinó la radioactividad en un contador gamma (Wallac Wizard). Se contaron de forma simultanea los estándares de dosis inyectada (1%) y la entrada a los tejidos de calculó como un % de la dosis inyectada por gramo de tejido (%DI/g).

Análisis SPECT-CT (4B9 IgG-IL-2 qm, 4B9 IgG₁, DP47GS IgG-IL-2 qm y DP47GS IgG₁)

- 15 4B9-IgG-IL-2 qm, 4B9-IgG₁, DP47GS-IgG-IL-2 qm y DP47GS-IgG₁ marcadas con ¹¹¹In se inyectaron por vía i.v. (20 MBq, 50, 150, 300 µg, 200 µl). A las 4, 24, 72 y 144 horas tras la inyección los animales se anestesiaron con isoflurano/O₂ y se escanearon durante 30 a 60 min en una cámara U-SPECT II microSPECT/CT (MILabs, Utrecht, Holanda) equipada con un colimador de 1,0
- 20 mm con ratón. La tomografía computerizada (CT) se realizó directamente tras el SPECT. Ambas tomografías SPECT (tamaño de voxel de 0,4 mm) y CT se reconstruyeron con el programa MILabs y las tomografías SPECT y CT se coregistraron para determinar la localización exacta de radioseñales. Las imágenes 3D se crearon utilizando el programa Siemens Inveon Research
- 25 Workplace.

La Figura 31 muestra que no existe una diferencia significativa entre la

distribución en tejido y la localización del tumor de 28H1 y 4B9 IgG1 y 28H1 IgG-IL-2 qm a las 24 horas (por lo que la citoquina no altera de forma significativa las propiedades de distribución en tejido y la localización del tumor de los inmunoconjugados), y que las proporciones tumor-sangre para las construcciones dirigidas contra FAP son significativamente mayores que para los IgG DP47GS control no dirigidos.

Estos resultados se confirmaron mediante imágenes tomográficas SPECT/CT del inmunoconjugado 4B9 IgG-IL-2 qm (datos no mostrados). 4B9 IgG-IL-2 qm se localizó en HEK-FAP positivas para FAP pero no en los tumores control de HEK-293 FAP negativas, mientras que el inmunoconjugado DP47GS no dirigido no localizó el tumor. A diferencia de las IgG no conjugadas, una incorporación semanal de 4B9 IgG-IL-2 qm se observó también en el bazo.

Ejemplo 9

Se comparó la unión de IgG-IL-2 qm basada en 28H1 y de IgG-(IL-2 qm)₂ basada en 28H1 (es decir, un inmunoconjugado de formato “2+2” tal como se describe en la Figura 1; las secuencias se muestran en los Id. de Sec N° 253 y 205) en células NK 92. 200.000 células NK92 por pocillo se sembraron en una placa de 96 pocillos. Los inmunoconjugados se titularon en células NK92 y se incubaron durante 30 min a 4°C para permitir la unión. Las células se lavaron dos veces con PBS que contenía BSA al 0,1% para eliminar las construcciones no unidas. Para la detección de los inmunoconjugados se añadió un anticuerpo específico anti- Fc-humano marcado con FITC durante 30 min a 4°C. Las células se lavaron de nuevo con PBS que contenía BSA al 0,1% y se analizaron mediante FACS utilizando un BD FACSCantoll.

Tal como se ilustra en la Figura 32, el inmunoconjugado “2+2” muestra una mejor unión a las células NK 92 que la correspondiente construcción “2+1”.

Ejemplo 10

Inducción de proliferación de CMSP humanas mediante inmunoconjugados de IL-2

Las células mononucleares de sangre periférica (CMSP) se prepararon
 5 utilizando Histopaque-1077 (Sigma Diagnostics Inc., St. Louis, MO, USA). En
 resumen, se extrajo sangre venosa de voluntarios sanos en jeringas
 heparinizadas. La sangre se diluyó 2:1 con PBS libre de calcio y magnesio, y se
 dejó reposar en Histopaque-1077. El gradiente se centrifugó a 450 x g durante
 30 min a temperatura ambiente (TA) sin pausas. La interfase que contenía las
 10 CMSP se recogió y se lavó tres veces con PBS (350 x g seguido de 300 x g
 durante 10 min a TA).

Posteriormente, las CMSP se marcaron con CFSE 40 nM (éster
 succinimidilo carboxifluoresceína) durante 15 min a 37°C. Las células se lavaron
 con 20 ml de medio antes de recuperar las CMSP marcadas durante 30 min a
 15 37°C. Las células se lavaron, contaron, y 100000 células se sembraron en una
 placa de 96 pocillos de fondo en U. Se titularon Proleuquina prediluida
 (disponible comercialmente IL-2 de tipo salvaje) o inmunoconjugados de IL2 en
 las células sembradas que se habían incubado durante los tiempos indicados.
 Tras 4-6 días, las células se lavaron, se tiñeron con marcadores de superficie
 20 celular adecuados, y se analizaron mediante FACS utilizando un BD
 FACSCantoll. Las células NK se definen como CD3⁻/CD56⁺, las células T CD4
 como CD3⁺/CD8⁻, y las células T CD8 como CD3⁺/CD8⁺.

La Figura 33 muestra la proliferación de las células NK tras la incubación
 con diferentes inmunoconjugados 28H1 IL-2 dirigidos contra FAP durante 4 (A),
 25 5 (B) o 6 (C) días. Todas las construcciones analizadas indujeron la proliferación
 de las células NK de una manera dependiente de la concentración. La

proleuquina fue más eficaz que los inmunoconjugados a concentraciones bajas, sin embargo esta diferencia no volvió a presentarse a concentraciones altas. En los tiempos más tempranos (día 4), las construcciones IgG-IL2 parecían ligeramente más potentes que las construcciones Fab-IL2-Fab. En los tiempos
5 más tardíos (día 6), todas construcciones presentan una eficacia comparable, con la construcción Fab-IL2 qm-Fab siendo la menos potente a concentraciones bajas.

La Figura 34 muestra la proliferación de células T CD4 tras la incubación con diferentes inmunoconjugados 28H1 IL-2 dirigidos contra FAP durante 4 (A),
10 5 (B) o 6 (C) días. Todas las construcciones analizadas indujeron la proliferación de las células T CD4 de una manera dependiente de la concentración. La proleuquina posee una actividad más alta que los inmunoconjugados, y los inmunoconjugados que comprenden IL-2 de tipo salvaje fueron ligeramente más potentes que los que comprenden IL-2 cuádruple mutante. Al igual que en las
15 células NK, la construcción Fab-IL2 qm-Fab posee la menor actividad. Lo más probables es que las células T CD4 proliferativas sean células T parcialmente reguladoras, al menos para las construcciones de IL-2 de tipo salvaje.

La Figura 35 muestra la proliferación de células T CD8 28H1 IL-2 tras la incubación con diferentes inmunoconjugados dirigidos contra FAP durante 4 (A),
20 5 (B) o 6 (C) días. Todas las construcciones analizadas indujeron la proliferación de las células T CD8 de una manera dependiente de la concentración. La proleuquina posee una actividad más alta que los inmunoconjugados, y los inmunoconjugados que comprenden IL-2 de tipo salvaje fueron ligeramente más potentes que los que comprenden IL-2 cuádruple mutante. Al igual que en las
25 células NK y en las células T CD4 la construcción Fab-IL2 qm-Fab posee la menor actividad.

Ejemplo 11

Proliferación y muerte celular inducida por activación de las CMSP activadas por IL-2

Las CMSP recién aisladas de donantes sanos se preactivaron durante la noche con PHA-M a 1 µg/ml en RPMI1640 con FCS al 10% y Glutamina al 1%.

- 5 Tras la preactivación las CMSP se recogieron, se marcaron con 40 nM de CFSE en PBS, y se sembraron en placas de 96 pocillos a 100 000 células/pocillo. Las CMSP preactivadas se estimularon con diferentes concentraciones de inmunconjugados de IL-2 (4B9 IgG-IL-2 wt, 4B9 IgG-IL-2 qm, 4B9 Fab-IL-2 wt-Fab, y 4B9 Fab-IL-2 qm-Fab). Tras seis días de tratamiento con IL-2, las CMSP
- 10 se trataron con anticuerpo activador anti-Fas a 0,5 µg/ml durante la noche. La proliferación de células T CD4 (CD3⁺CD8⁻) y CD8 (CD3⁺CD8⁺) se analizó a los seis días mediante dilución con CFSE. El porcentaje de células T vivas tras el tratamiento anti-Fas se determinó mediante la selección sobre células vivas CD3⁺ Anexina V negativas.

- 15 Tal como se muestra en la Figura 36, todas las construcciones indujeron proliferación de células T preactivadas. A bajas concentraciones las construcciones que comprendían IL-2 wt fueron más activas que las construcciones que comprendían IL-2 qm. IgG-IL-2 wt, Fab-IL-2 wt-Fab y Proleuquina poseen una actividad similar. Fab-IL-2 qm-Fab fue ligeramente
- 20 menos activa que IgG-IL-2 qm. las construcciones que comprendían IL-2 de tipo salvaje fueron más activas sobre células T CD4 que sobre células T CD8, lo más probables debido a la activación de células T reguladoras. Las construcciones que comprendían IL-2 cuádruple mutante fueron similarmente activas sobre células T CD8 y sobre células T CD4.

- 25 Tal como se muestra en la Figura 37, las células T estimuladas con altas concentraciones de IL-2 de tipo salvaje son más sensibles a la apoptosis inducida por anti-Fas que las células T tratadas con IL-2 cuádruple mutante.

Ejemplo 12

Se caracterizó la construcción DP47GS no dirigida (véase Id. de Sec. N°: 299 y 297 para las secuencias VH y VL, respectivamente). Como se describió anteriormente, se realizaron los conjugados de DP47GS IgG con IL-2 de tipo salvaje o cuádruple mutante. Estas construcciones mostraron unión similar a la IL-2R e inducción de proliferación de células inmunes (por ejemplo, células NK, células CD8⁺ y células CD4⁺) in vitro como las correspondientes construcciones dirigidas (datos no mostrados). En contraste con los inmunoconjugados dirigidos a un antígeno tumoral, sin embargo, no se acumulan en el tejido tumoral (véase el Ejemplo 8).

Un estudio farmacocinético adicional (además del que se muestra en el Ejemplo 7) se realizó con las construcciones no dirigidas DP47GS IgG-IL-2 que comprenden IL-2 de tipo salvaje o IL-2 cuádruple mutante. Ratones macho C57BL/6J (n = 6 por grupo) fueron inyectados iv con 0,3, 1,3 o 10 mg/ kg con las construcciones DP47GS IgG-IL-2 de tipo salvaje o DP47GS IgG-IL-2 qm. El volumen de inyección fue de 1 ml para todos los ratones. Se tomaron muestras de sangre a las 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96 y 168 horas después de la inyección (de 3 ratones en cada punto de tiempo) y se almacenaron a -20°C hasta su análisis. Las construcciones se cuantificaron en las muestras de suero mediante ELISA, utilizando anticuerpos anti-Fab para la captura y la detección de las construcciones. Todas las muestras y los estándares de calibración se diluyeron 1:25 en suero de ratón (obtenido a partir de Bioreclamation) antes del análisis. Brevemente, placas de 96 pocillos recubiertas de estreptavidina (Roche) se lavaron tres veces durante 10 s con PBS/0,05% de Tween 20, antes de la incubación con 100 μ l/ pocillo (0,5 μ g/ ml) de anticuerpo Fab anti-humano biotinilado (M-1.7.10; Roche Diagnostics) durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de lavar la placa de nuevo tres veces con PBS/0,05% de

Tween 20, se añadieron 50 μ l/ pocillo de las muestras de suero o estándares de calibración y 50 μ l / pocillo PBS/0,5% BSA para dar una dilución final de la muestra de 1:50. Las muestras se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente, seguido por lavado de la placa de nuevo tres veces con PBS/0,05% de Tween 20. A continuación, la placa se incubó con 100 μ l/ pocillo (0,5 μ g/ ml) de anticuerpo Fab anti-humano marcada con digoxigenina (M-19.1.31; Roche Diagnostics) durante 1 hora a temperatura ambiente, se lavaron, se incubaron con 100 μ l/ pocillo POD anti-digoxigenina (Roche Diagnostics N° de Cat. 11633716001) durante 1 hora a temperatura ambiente, y se lavó de nuevo.

10 Finalmente, se añadió sustrato de peroxidasa 100 μ l/ pocillo de TMB (Roche Diagnostics N° de Cat. 11484281001) durante aproximadamente 5 minutos, antes se paró la reacción del sustrato con HCl 2N 50 μ l/ pocillo. La placa se leyó a los 2 minutos después de parar la reacción a 450 nm con una longitud de onda de referencia de 650 nm.

15 El resultado de este estudio se muestra en la Figura 38. Ambas construcciones mostraron vida media en suero más larga, con la construcción que comprende el cuádruple mutante de IL-2 (B), siendo incluso la vida más larga que la que comprende la IL- 2 de tipo salvaje (A).

Además, se confirmó la falta de unión de IgG DP47GS a diversas proteínas, así como células humanas (CMSP).

20

Se evaluó la especificidad de unión (o la falta de la misma) del anticuerpo DP47GS en un sistema de ensayo basado en ELISA con un panel de diferentes antígenos no relacionados. La prueba se realizó en placas microtituladas de 384 pocillos MaxiSorp TM (Thermo Scientific Nunc, N° Cat 460372). Después de cada paso de incubación las placas se lavaron tres veces con PBS/0,05% de Tween-20. En primer lugar, los diferentes antígenos, diluidos en PBS, se recubrieron en placas durante la noche a 6°C. Las concentraciones de ensayo y la información

25

detallada de los antígenos utilizados se enumeran en la siguiente tabla.

Antígeno	Fuente	Proveedor	Nº Cat	Concentración de ensayo [μ g / ml]
Histonas	timo de ternera	Roche Diagnostics	10223565601	2
fracción BSA V	bovina	Roche Diagnostics	10735108001	2
insulina	humana	Roche Diagnostics	11376497001	2
Cardiolipina	bovina	Sigma- Aldrich	c1649	2
heparina	porcina	Sigma-Aldrich	H9902	2
CD40 (hFc)	humana	Sino Biological	1077- H03H	1
Hormona paratiroidea aa 1-34 (PTH) (biotina)	humana	AnaSpec	20690	0,5
dsDNA	timo de ternera	Sigma- Aldrich	D4522	0,16
Hemocianina	lapa californiana	Sigma- Aldrich	H7017	0,22
Actina beta 2	humana	Cytoskeleton	APHL99	0,67
Estreptavidina	Streptomyces avidinii	Roche Diagnostics	11721674001	1
Gelatina	bovina	Roche Diagnostics	11111965001	tampón de bloqueo 2 %
lisado de E. coli	E. coli	casero	-	diluida 1:600

A partir de entonces, los pocillos se bloquearon con 2 % de gelatina en agua durante 1 hora a temperatura ambiente (TA). El anticuerpo DP47GS (1 μ g/ml en PBS) se incubó con el panel de antígenos capturados durante 1,5 horas a

5 TA. El anticuerpo unido se detectó usando conjugado de anticuerpo anti-IgG

humana-HRP (GE Healthcare, N° Cat 9330V; diluido 1:1000 en PBS con 0,2% de Tween-20 y 0,5% de gelatina). Después de 1 hora de incubación las placas se lavaron 6 veces con PBS/0,05% de Tween-20 y se revelaron con solución recién preparada sustrato POD azul BM (azul BM: 3,3'-5,5'- tetrametilbencidina, Roche Diagnostics, N° Cat 11484281001) durante 30 minutos a TA. Se midió la absorbancia a 370 nm. El valor del blanco se definió sin adición de anticuerpos. Un anticuerpo IgG1 humano casero que presenta unión no específica a casi todos los antígenos capturados sirvió como control positivo.

El resultado de este experimento se muestra en la Figura 39. El anticuerpo DP47GS no mostró unión a ninguno de los antígenos capturados. Las señales detectadas estaban en el rango de las muestras de control sin anticuerpo.

Por último, se evaluó la unión del anticuerpo DP47GS a las CMSP humanas. Dado que en el curso de una respuesta inmune típica la combinación de proteínas presentadas en la superficie celular, cambia dramáticamente, se aqnalizó la unión en CMSP directamente después de su aislamiento de adultos sanos, así como después de la activación in vitro con dos estímulos diferentes.

Las CMSP humanas se aislaron mediante centrifugación en gradiente de densidad de Ficoll a partir de capas leucocitarias o de sangre fresca heparinizada de voluntarios sanos utilizando Histopaque 1077 (Sigma-Aldrich, Alemania). Las CMSP se sometieron directamente a ensayos de unión (CMSP frescas) o cultivadas y estimuladas después. Las CMSP se cultivaron a una densidad celular de 2×10^6 células/ ml en medio de células T que consiste en medio RPMI 1640 (Gibco) suplementado con 10 % (v/ v) de FBS inactivado por calor (PAA Laboratories), piruvato de sodio 1 mM (Sigma-Aldrich), L-alanil-L-glutamina 1% (v/ v) (Biochrom) y β -mercaptoetanol 10 nM (Sigma-Aldrich) a 37°C. Para la estimulación in vitro, se añadieron Proleucina (200 U/ ml, Novartis)

y fitohemaglutinina (PHA-L; 2 μ g/ml, Sigma-Aldrich) durante seis días de cultivo (CMSP activadas CON PHA-L). Para re-estimulación in vitro de, placas de cultivo celular de 6 pocillos se recubrieron con el anticuerpo de ratón anti-CD3 humano (clon KT3, 1 μ g/ ml) y anticuerpos de ratón anti-CD28 humano (clon 28.2, 2 μ g/ ml, ambos de eBioscience) y CMSP activados con PHA-L se añadió durante 24 horas adicionales (CMSP re-estimuladas). La unión del anticuerpo DP47GS (con o sin las mutaciones L234A L235A (LALA) P329G en el dominio Fc) a las proteínas de superficie celular se monitorizó para una serie de diluciones en serie de cinco veces (mayor concentración 200 nM) utilizando un anticuerpo secundario de cabra anti-IgG específico de Fc humano conjugado con isotiocianato de fluoresceína (FITC) (Jackson Laboratories) y el análisis de citometría de flujo. Todos los ensayos se realizaron a 4°C para evitar la internalización de proteínas de la superficie. La incubación de anticuerpo primario y secundario fue durante 2 horas y durante 1 hora, respectivamente.

Para permitir la tipificación simultánea de los leucocitos, se añadieron al anticuerpo secundario combinaciones de anticuerpos de ratón marcados con fluorocromo anti-CD14 humano, CD15, CD4, CD19 (todos de Biolegend), NKp46, CD3, CD56, CD8 (todos de BD Pharmingen). Se añadió yoduro de propidio (1 μ g/ ml) directamente antes de la medición en un dispositivo FACSCantoII que ejecuta el programa FACS Diva (ambos de BD Bioscience) para excluir las células muertas permeables. Las células vivas negativas para el yoduro de propidio fueron seleccionadas por las células T (CD14⁻ CD3⁺ CD4⁺ / CD8⁺), células B (CD14⁻ CD19⁺), células NK (CD14⁻ NKp46⁺ / CD56⁺) o monocitos / neutrófilos (CD3⁻ CD56⁻ CD14⁺ / CD15⁺). La fluorescencia media de FITC de los diversos tipos de leucocitos se determinó como indicador para el anticuerpo primario unido y se representó frente a la concentración de anticuerpo primario usando Prism4 (GraphPad Software).

Como se muestra en la Figura 40, el anticuerpo IgG de DP47GS sin

mutación Fc mostró unión sólo a células portadoras de receptores Fc gamma, por ejemplo, células NK y monocitos/ neutrófilos. Se detectó la no unión de DP47GS (LALA P329G) en CMSP humanas, independientemente de su estado de activación. La mutación P329G LALA en el dominio Fc evitó por completo la
5 unión también a células portadoras de receptores Fc gamma.

* * *

Aunque se ha descrito la invención precedente en cierto detalle a modo de ilustración y ejemplo con el propósito de mejorar su comprensión, las descripciones y ejemplos no deben interpretarse como limitantes del alcance de
10 la invención. Las descripciones de todas las patentes y literatura científica aquí citadas se incorporan de forma expresa en su totalidad como referencia.

REIVINDICACIONES

1. Un inmuconjugado que comprende una primera porción de unión a antígeno, un dominio Fc que consta de dos subunidades y una porción efectora, que se caracteriza por que no se encuentra presente más de una
5 porción efectora.

2. El inmuconjugado de la reivindicación 1, en el que dicha porción efectora está fusionada con el aminoácido amino o carboxiterminal de una de dichas dos subunidades del dominio Fc, opcionalmente a través de un péptido enlazante.

10 3. El inmuconjugado de la reivindicación 1, en el que dicha primera porción de unión a antígeno está fusionada al aminoácido aminoterminal de una de dichas dos subunidades del dominio Fc, opcionalmente a través de un péptido enlazante o una región bisagra de las inmunoglobulinas.

15 4. El inmuconjugado de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 3, en el que dicha primera porción de unión a antígeno comprende un dominio de unión a antígeno de un anticuerpo.

5. El inmuconjugado de la reivindicación 4, en el que dicha primera porción de unión a antígeno es una molécula Fab.

20 6. El inmuconjugado de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 5, en el que dicho dominio Fc comprende una heterodimerización promotora de modificación de dos cadenas de polipéptido no idénticas.

7. El inmuconjugado de la reivindicación 6, en el que dicha modificación es una modificación de “botón en ojal”, que comprende una modificación botón en una de las subunidades del dominio Fc y una modificación
25 ojal en la otra subunidad del dominio Fc.

8. El inmuconjugado de la reivindicación 7, en el que dicha porción efectora está fusionada con el aminoácido amino o carboxiterminal de la subunidad del dominio Fc que comprende la modificación botón.

9. El immunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 8, en el que dicho dominio Fc es un dominio Fc de la IgG.

10. El immunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 9, en el que dicho dominio Fc está diseñado para que posea una unión alterada a un receptor Fc y/o una función efectora alterada.

11. El immunoconjugado de la reivindicación 10, en el que dicho receptor Fc es un receptor Fcγ.

12. El immunoconjugado de la reivindicación 10, en el que dicha función efectora es la CCDA.

13. El immunoconjugado de la reivindicación 10, en el que dicha unión y/o función efectora alterada es una reducción de la unión y/o de la función efectora.

14. El immunoconjugado de la reivindicación 13, en el que dicho dominio Fc comprende una o más mutaciones de aminoácido que reducen la unión del dominio Fc a un receptor Fc, en concreto a un receptor Fcγ.

15. El immunoconjugado de la reivindicación 14, en el que dicha mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácidos en la posición P329.

16. El immunoconjugado de las reivindicaciones 14 o 15, en el que el dominio Fc comprende las sustituciones de aminoácido L234A, L235A y P329G en cada una de sus subunidades.

17. El immunoconjugado de la reivindicación 10, en el que dicha unión y/o función efectora alterada es un aumento de la unión y/o la función efectora.

18. El immunoconjugado de la reivindicación 17, en el que dicho dominio Fc está diseñado para que posea una estructura de oligosacáridos alterada, en comparación con un dominio Fc no modificado.

19. El immunoconjugado de la reivindicación 18, en el que dicho dominio Fc comprende una proporción aumentada de oligosacáridos no fucosilados, en comparación con un dominio Fc no modificado.

20. El immunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 19, en el que el immunoconjugado comprende una primera y una segunda porción de unión a antígeno.

21. El immunoconjugado de la reivindicación 20, en el que dicha
5 primera y dicha segunda porción de unión a antígeno y dicho dominio Fc forman parte de una molécula de inmunoglobulina.

22. El immunoconjugado de la reivindicación 21, en el que dicha molécula de inmunoglobulina es una inmunoglobulina de clase IgG.

23. El immunoconjugado de las reivindicaciones 20 o 21, en el que
10 dicha porción efectora está fusionada al aminoácido carboxiterminal de una de las cadenas pesadas de la inmunoglobulina, opcionalmente a través de un péptido enlazante.

24. El immunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 23, en el que dicha primera porción de unión a antígeno, o dicha primera y dicha
15 segunda porción de unión a antígeno, se dirigen a un antígeno asociado con un estado patológico.

25. El immunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 24, en el que dicha primera porción de unión a antígeno, o dicha primera y dicha segunda porción de unión a antígeno, se dirigen a un antígeno seleccionado de
20 entre el grupo de la proteína de activación de fibroblastos (FAP), dominio A1 de la Tenascina-C (TNC A1), dominio A2 de la Tenascina-C (TNC A2), dominio extra B de la fibronectina (EDB), antígeno carcinoembrionario (CEA) y proteoglicano condroitin sulfato asociado a melanoma (MCSP).

26. El immunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a
25 25, en el que dicha porción efectora es una porción efectora de cadena sencilla.

27. El immunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 26, en el que la porción efectora es una citoquina.

28. El immunoconjugado de la reivindicación 27, en el que dicha

citoquina es la IL-2.

29. El immunoconjugado de las reivindicaciones 27 o 28, en el que dicha citoquina es un polipéptido mutante de la IL-2 con afinidad de unión reducida a la subunidad α del receptor IL-2.

5 30. El immunoconjugado de la reivindicación 29, en el que dicho polipéptido mutante de la IL-2 comprende una sustitución de aminoácidos en una o más posiciones seleccionadas de entre las posiciones que corresponden a los residuos 42, 45 y 72 de la IL-2 humana.

31. El immunoconjugado de la reivindicación 27, en el que dicha
10 citoquina es la IL-10.

32. Un polinucleótido aislado que codifica el immunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 31 o un fragmento del mismo.

33. Un vector de expresión que comprende el polinucleótido aislado de la reivindicación 32.

15 34. Una célula huésped que comprende el polinucleótido aislado de la reivindicación 32 o el vector de expresión de la reivindicación 33.

35. La célula huésped de la reivindicación 34, en el que dicha célula huésped se ha manipulado para expresar niveles aumentados de uno o más polipéptidos con actividad $\beta(1,4)$ -N-acetilglucosaminiltransferasa III (GnTIII).

20 36. Un método para obtener el immunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 31, que comprenden el cultivo de la célula huésped de la reivindicación 34 o 35 bajo condiciones adecuadas para la expresión del immunoconjugado y opcionalmente la recuperación del immunoconjugado.

37. Un immunoconjugado que comprende una porción de unión a
25 antígeno, un dominio Fc y una única porción efectora, en el que dicho immunoconjugado se ha producido mediante el método de la reivindicación 36.

38. Una composición farmacéutica que comprende el immunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 31 o la

reivindicación 37 y un transportador aceptable a nivel farmacéutico.

39. El inmunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 33 o la reivindicación 37, o la composición farmacéutica de la reivindicación 38, para su utilización en el tratamiento de una enfermedad en un individuo con
5 necesidad del mismo.

40. El inmunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 33 o la reivindicación 37, o la composición farmacéutica de la reivindicación 38, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad en un individuo con necesidad del mismo.

10 41. Un método para el tratamiento de una enfermedad en un individuo, que comprende la administración a dicho individuo de una cantidad efectiva en el ámbito terapéutico de una composición que comprende el inmunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 31 o la reivindicación 37 en una forma aceptable en el ámbito terapéutico.

15 42. El inmunoconjugado o la composición farmacéutica de las reivindicaciones 39 o 40, o el método de la reivindicación 41, en el que dicha enfermedad es el cáncer.

43. El inmunoconjugado o la composición farmacéutica de las reivindicaciones 39 o 40, o el método de la reivindicación 41, en el que dicha
20 enfermedad es un trastorno inflamatorio.

44. El inmunoconjugado, composición farmacéutica o método de la reivindicación 43, en el que la porción efectora del inmunoconjugado es la IL-10.

45. Un conjugado que comprende una primera molécula de Fab que no se une específicamente a ningún antígeno, un dominio Fc que consiste en dos
25 subunidades, y una porción efectora, en el que no más de una porción efectora está presente.

46. El conjugado de la reivindicación 45, en el que dicha primera molécula

Fab comprende la secuencia de la cadena pesada de la región variable de Id. de Sec. N°: 299 y la secuencia de la región variable de la cadena ligera de Id. de Sec. N°: 297.

47. El conjugado de la reivindicación 45 o 46, en el que dicha porción
5 efectora se fusiona con el aminoácido del extremo amino- o carboxi-terminal de una de dichas dos subunidades del dominio Fc, opcionalmente a través de un péptido enlazante.

48. El conjugado de la reivindicación 45 o 46, en el que dicha primera
molécula de Fab se fusiona con el aminoácido amino-terminal de una de dichas
10 dos subunidades del dominio Fc, opcionalmente a través de un péptido enlazante o una región bisagra de inmunoglobulina.

49. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 45 a 48, en el que dicho dominio Fc comprende una modificación que promueve la heterodimerización de dos cadenas polipeptídicas no idénticas.

15 50. El conjugado de la reivindicación 49, en el que dicha modificación es una modificación botón en ojal, que comprende una modificación de tipo botón en una de las subunidades del dominio Fc y una modificación de tipo ojal en la otra subunidad del dominio Fc.

51. El conjugado de la reivindicación 50, en el que dicha porción efectora
20 se fusiona con el aminoácido del extremo amino- o carboxi-terminal de la subunidad del dominio Fc que comprende la modificación mando.

52. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 45 a 51, en el que dicho dominio Fc es un dominio Fc de IgG.

53. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 45 a 52, en el que

dicho dominio Fc está diseñado para tener alterada la unión a un receptor de Fc y/ o la función efectora alterada.

54. El conjugado de la reivindicación 53, en el que dicho receptor Fc es un receptor Fc□.

5 55. El conjugado de la reivindicación 53, en donde dicha función efectora es CCDA.

56. El conjugado de la reivindicación 53, en el que dicha función de unión y/ o efectora alterada es una función de unión y/ o efectora reducida.

57. El conjugado de la reivindicación 56, en el que dicho dominio Fc
10 comprende una o más mutaciones de aminoácidos que reduce la unión del dominio Fc a un receptor Fc, particularmente un receptor Fc□.

58. El conjugado de la reivindicación 57, en el que dicha mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido en la posición P329.

59. El conjugado de las reivindicaciones 57 o 58, en el que el dominio Fc
15 comprende las sustituciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G en cada una de sus subunidades.

60. El conjugado de la reivindicación 53, en el que dicha función de unión y/ o efectora alterada es una función de unión y/ o efectora aumentada.

61. El conjugado de la reivindicación 60, en el que dicho dominio Fc está
20 modificado para tener una estructura de oligosacárido alterado, en comparación con un dominio Fc no modificado.

62. El conjugado de la reivindicación 61, en el que dicho dominio Fc comprende una mayor proporción de oligosacáridos no fucosilados, en

comparación con un dominio Fc no modificado.

63. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 45 a 62, en el que el conjugado comprende una primera y una segunda molécula de Fab.

64. El conjugado de la reivindicación 63, en el que dicha primera y dicha
5 segunda molécula de Fab comprenden cada una la secuencia de la región variable de la cadena pesada de Id. de Sec. N°: 299 y la secuencia de la región variable de la cadena ligera de Id. de Sec. N°: 297.

65. El conjugado de la reivindicación 64, en el que dicha primera y dicha segunda molécula de Fab y dicho dominio Fc son parte de una molécula de
10 inmunoglobulina.

66. El conjugado de la reivindicación 65, en el que dicha molécula de inmunoglobulina es una inmunoglobulina de clase IgG.

67. El conjugado de las reivindicaciones 65 o 66, en el que dicha porción efectora se fusiona con el aminoácido carboxi-terminal de una de las cadenas
15 pesadas de inmunoglobulina, opcionalmente a través de un péptido enlazante.

68. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 45 a 67, en el que dicha porción efectora es una porción efectora de cadena sencilla.

69. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 45 a 68, en el que la porción efectora es una citoquina.

20 70. El conjugado de la reivindicación 69, en el que dicha citoquina es IL-2.

71. El conjugado de las reivindicaciones 69 o 70, en el que dicha citoquina es un polipéptido de IL-2 mutante con afinidad de unión reducida a la subunidad α del receptor de IL-2.

72. El conjugado de la reivindicación 71, en el que dicho polipéptido de IL-2 mutante comprende una sustitución de aminoácido en una o más posiciones seleccionadas de las posiciones correspondientes a los residuos 42, 45 y 72 de la IL-2.

5 73. Un polinucleótido aislado que codifica el conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 45 a 72 o un fragmento del mismo.

74. Un vector de expresión que comprende el polinucleótido aislado de la reivindicación 73.

10 75. Una célula huésped que comprende el polinucleótido aislado de la reivindicación 73 o el vector de expresión de la reivindicación 74.

76. Un método para producir el conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 45 a 72, que comprende cultivar la célula huésped de la reivindicación 75 en condiciones adecuadas para la expresión del conjugado y opcionalmente recuperar el conjugado.

15 77. Un conjugado que comprende un fragmento Fab que no se une específicamente a ningún antígeno, un dominio Fc y una única porción efectora, en el que dicho conjugado es producido por el método de la reivindicación 76.

20 78. Una composición farmacéutica que comprende el conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 45 a 72 o la reivindicación 77 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

79. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 45 a 72 o reivindicación 77, o la composición farmacéutica de la reivindicación 78, para su uso en el tratamiento de una enfermedad en un individuo que la necesita.

80. El conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 45 a 72 o

reivindicación 77, o la composición farmacéutica de la reivindicación 78, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad en un individuo que lo necesita.

81. Un método de tratamiento de una enfermedad en un individuo, que
5 comprende administrar a dicho individuo una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición que comprende el conjugado de cualquiera de las reivindicaciones 45 a 72 o la reivindicación 77 en una forma farmacéuticamente aceptable.

82. La invención como se ha descrito hasta este momento.

		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) No. de solicitud:		(51) Int Cl: C07K 14/55	
(22) Fecha de solicitud: 29-10-13		(71) Solicitante(s): ROCHE GLYCART AG.	
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad 11164237.7	(32) Fecha 29-04-11	(33) País EP
		(72) Inventor(es): AST, Oliver; BRUENKER, Peter; HOFER, Thomas U.; HOSSE, Ralf; KLEIN, Christian; MOESSNER, Ekkehard y UMANA Pablo.	
		(74) Apoderado: ALICIA LLORED A RICAURTE	
(85)	Fecha límite inicio fase nacional: 29-11-13	(87) Publicación internacional	
(86)	Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT	Fecha: 01-11-12	
	Fecha de presentación de la solicitud: 26-04-12	No. publicación: WO 2012/146628 A1	
	No. de solicitud: PCT/EP2012/057587		
(54) Titulo: "NUEVOS INMUNOCONJUGADOS"			

Resumen - Reivindicación(es):

Resumen.-

La presente invención en general está relacionada con inmunoconjugados específicos de antígeno para la liberación selectiva de porciones efectoras que influyen en la actividad celular. Más específicamente, la invención proporciona nuevos inmunoconjugados que comprenden una primera porción de unión a antígeno, un dominio Fc y una única porción efectora. Además, la presente invención está relacionada con los polinucleótidos que codifican tales inmunoconjugados, y con los vectores y células huésped que comprenden tales polinucleótidos. La invención además está relacionada con los métodos para producir los inmunoconjugados de la invención, y con los métodos de utilización de estos inmunoconjugados en el tratamiento de una enfermedad.

Sector: Inmunoconjugados específicos de antígeno para liberar de forma selectiva porciones efectoras que influyen en la actividad celular, métodos de preparación y composiciones farmacéuticas que los comprenden.

FIGURA 1

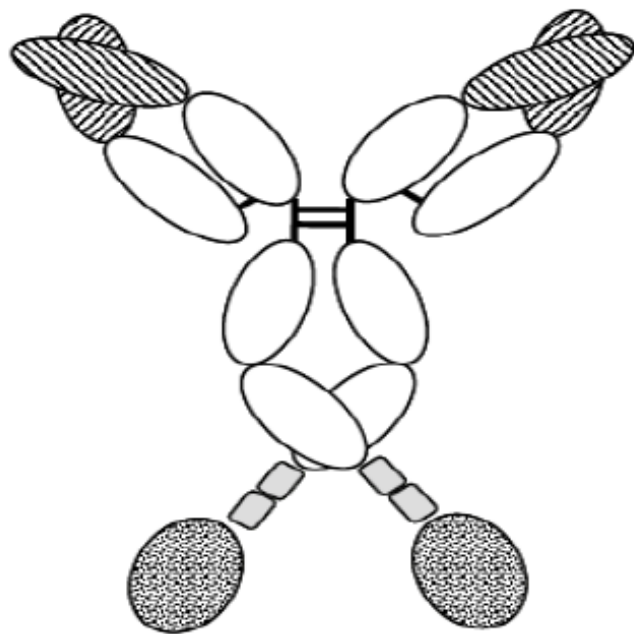


FIGURA 2

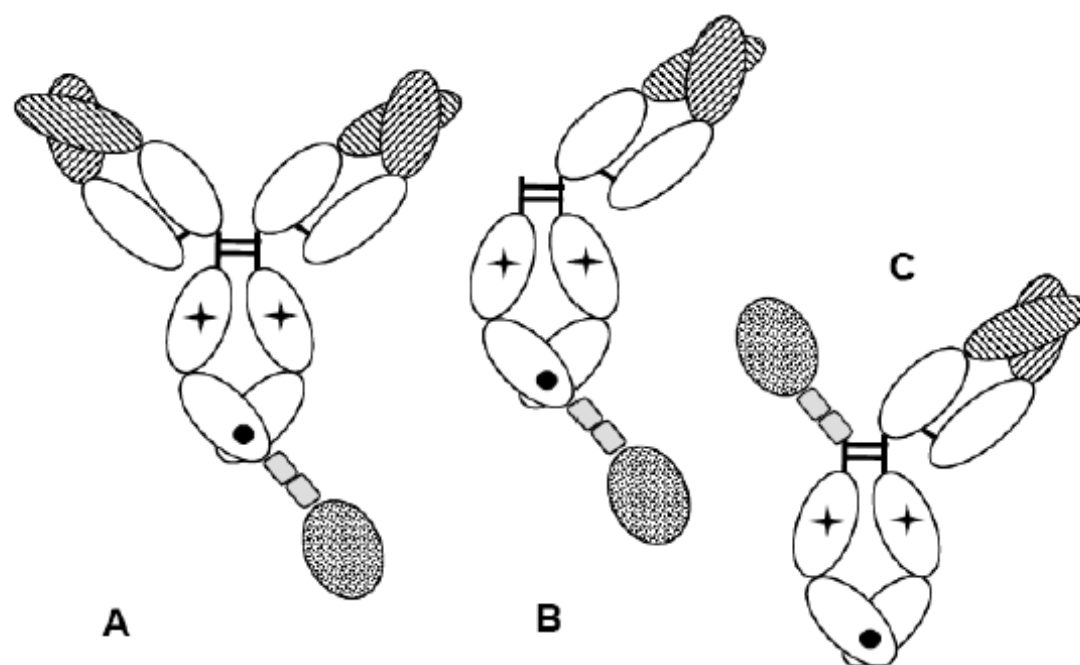


FIGURA 3

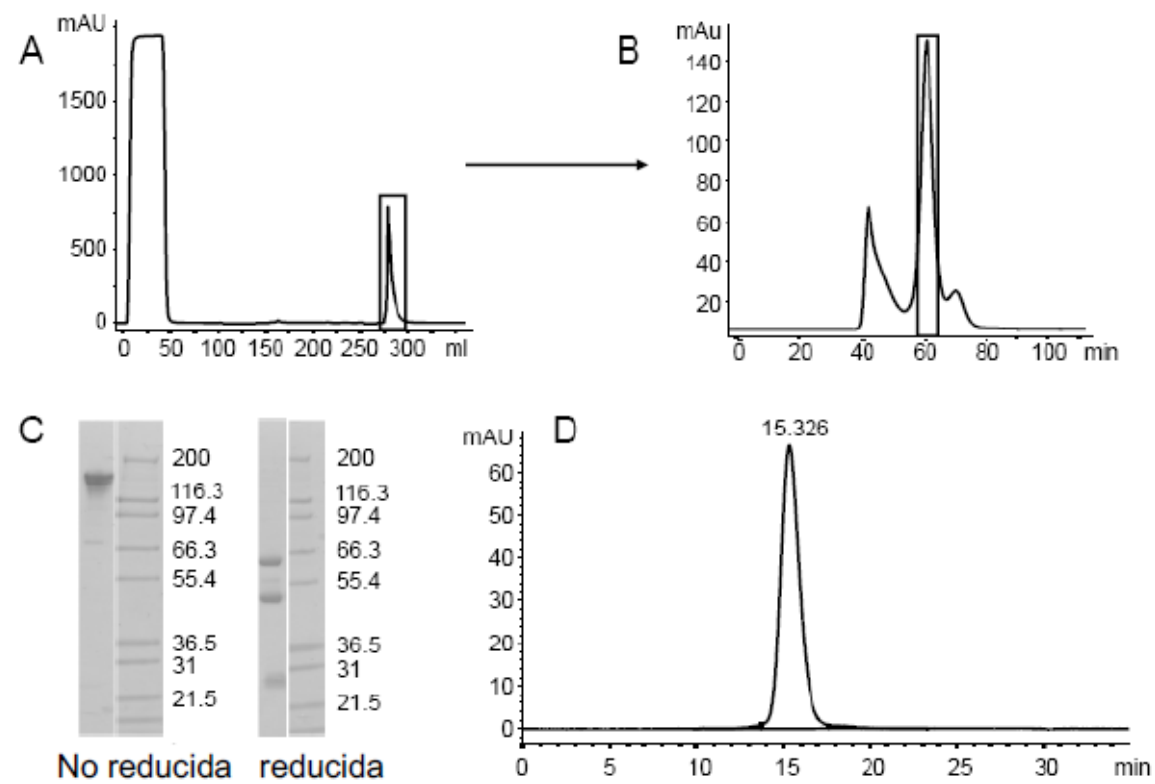


FIGURA 4

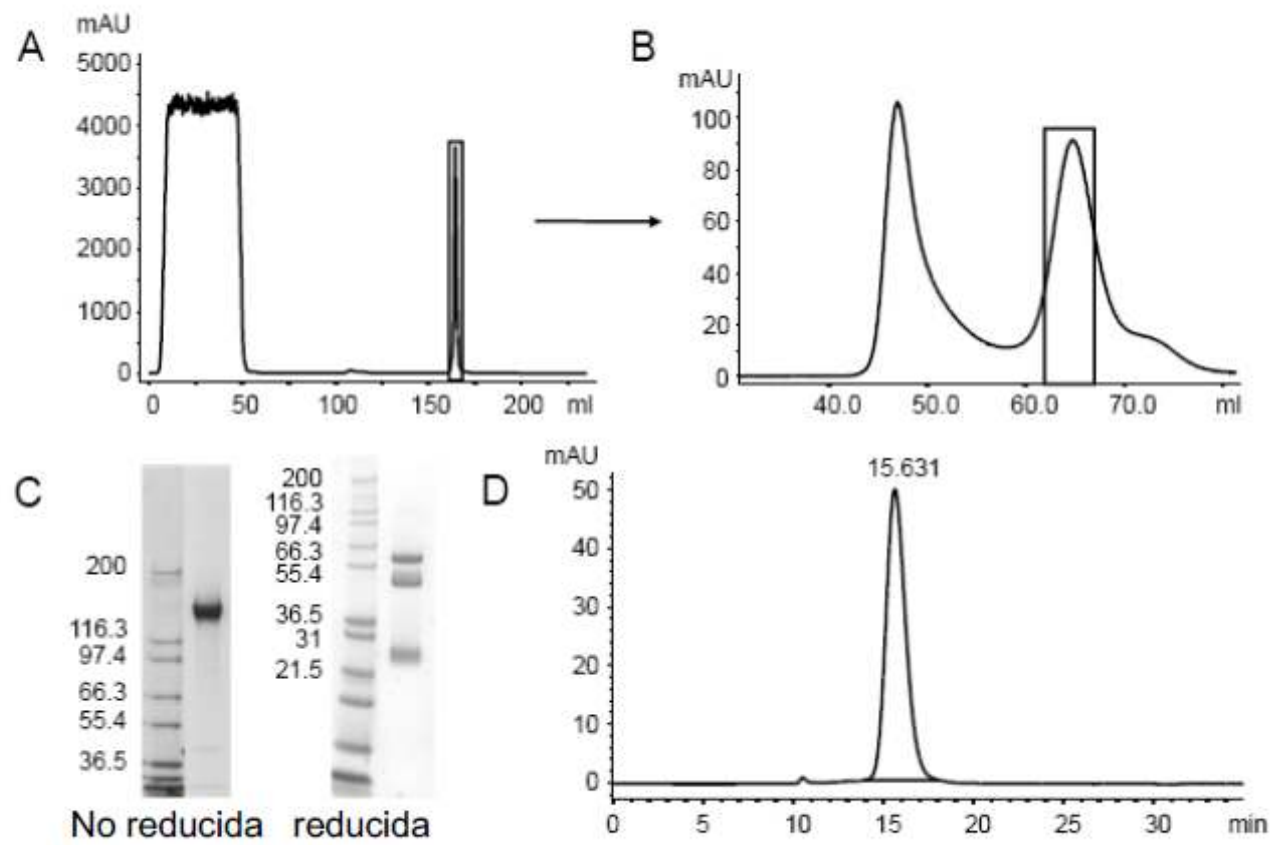


FIGURA 5

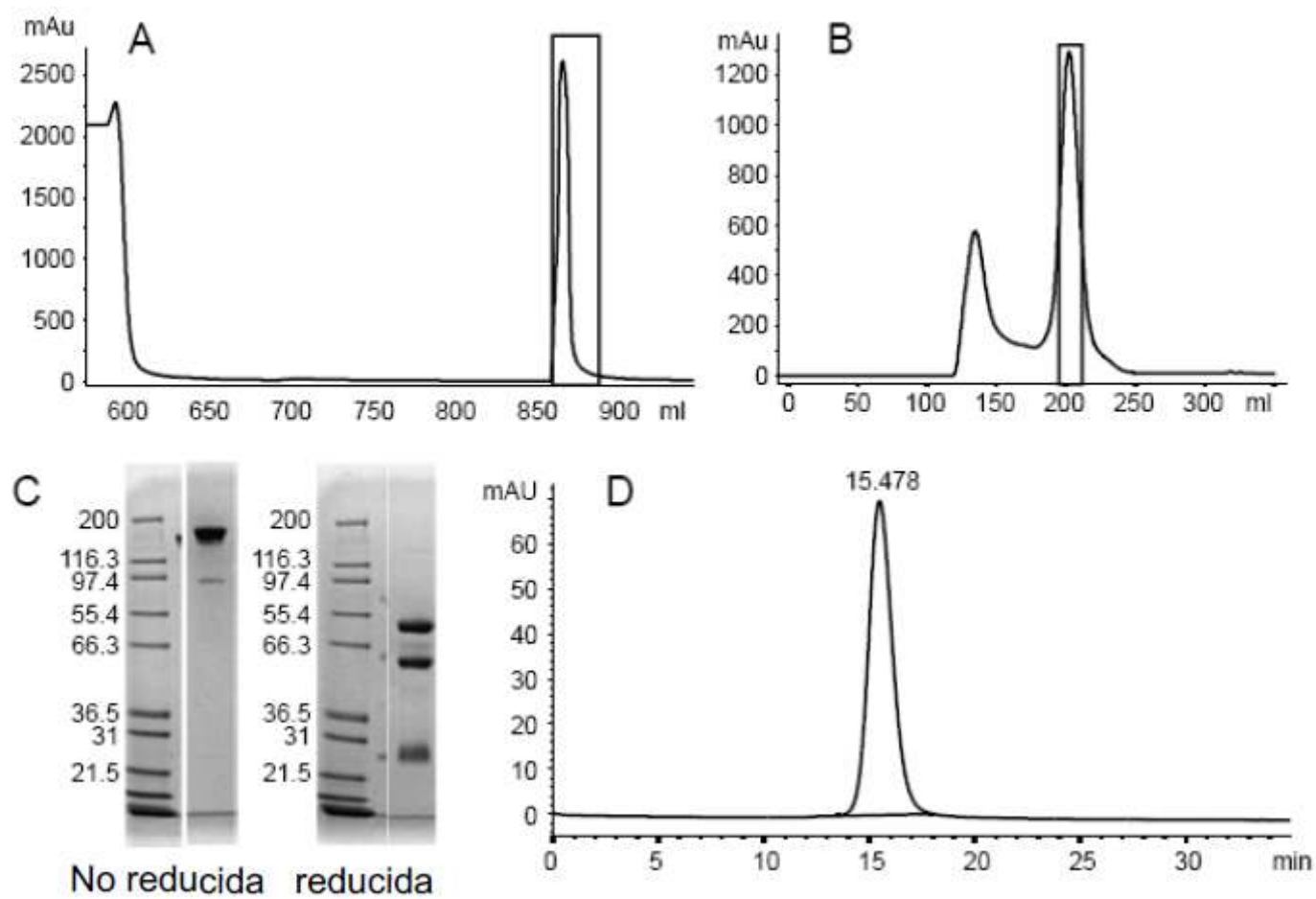


FIGURA 6

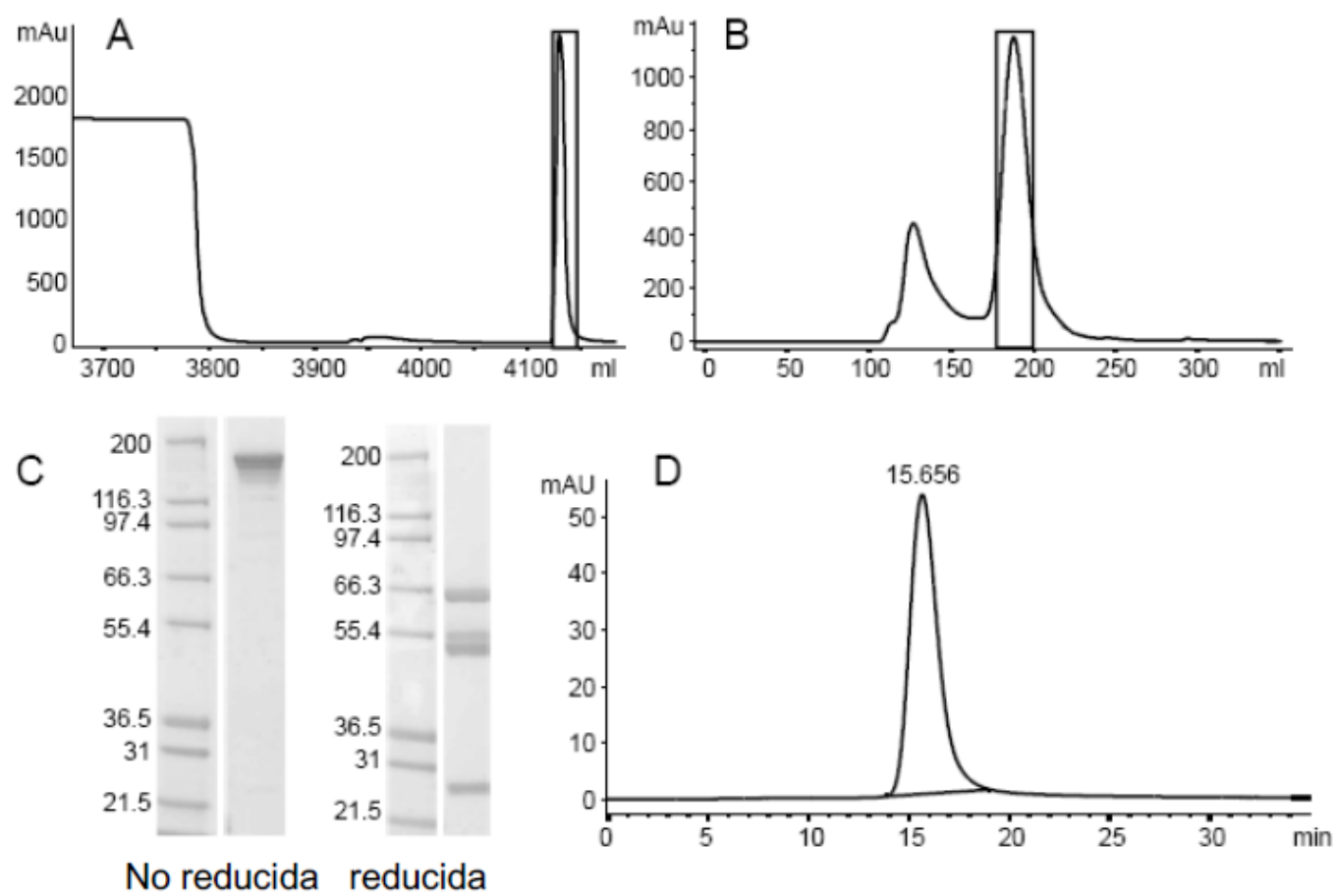


FIGURA 7

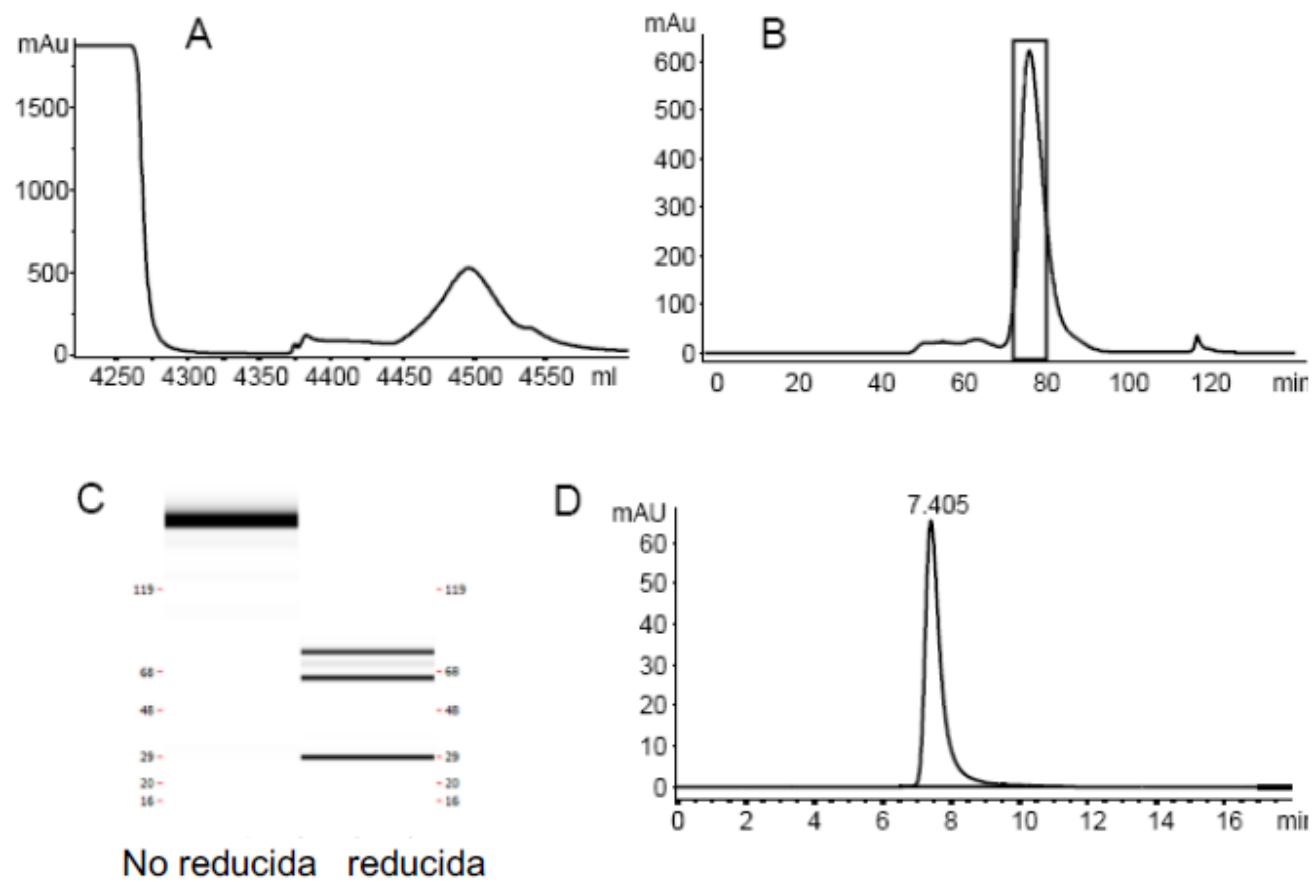


FIGURA 8

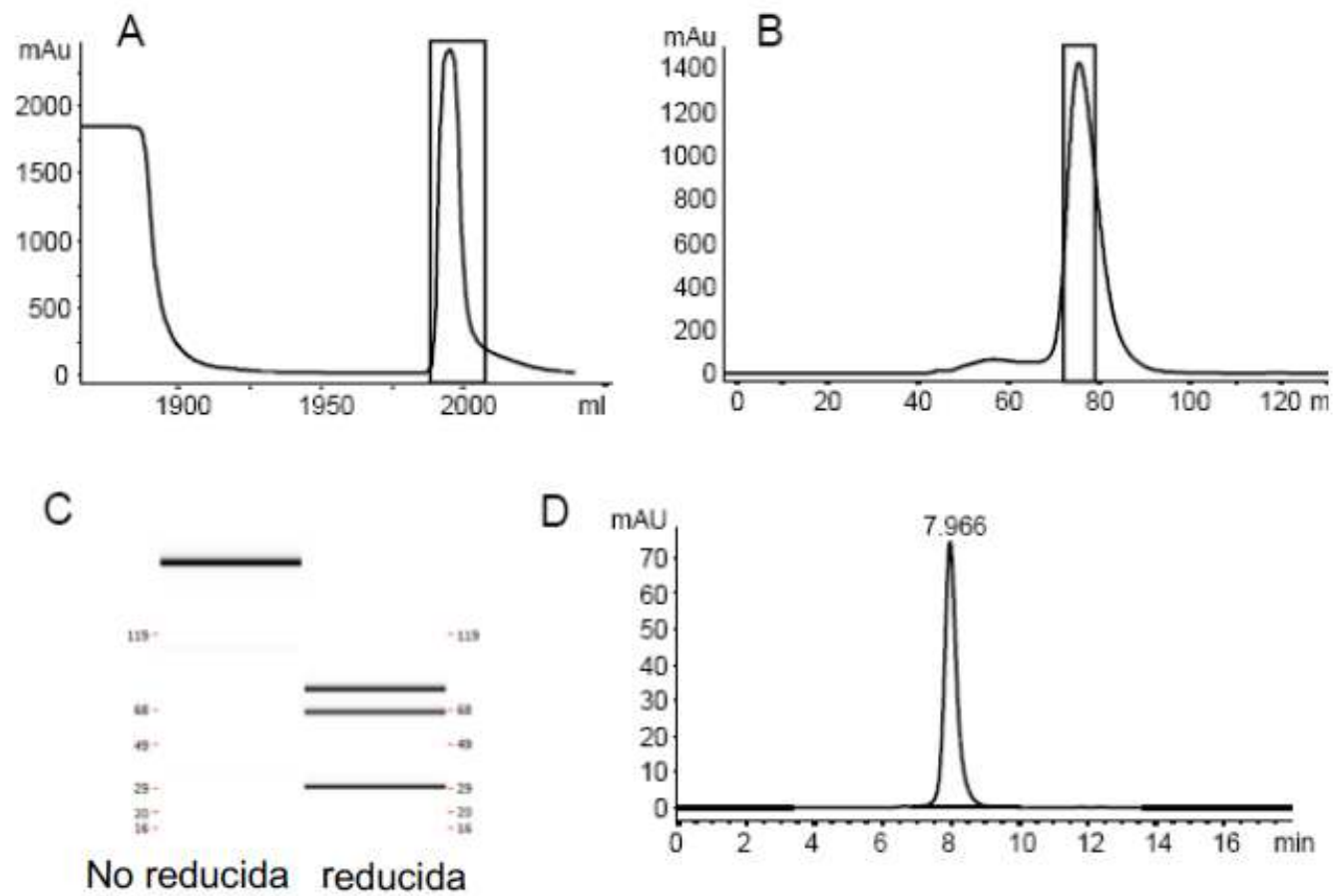


FIGURA 9

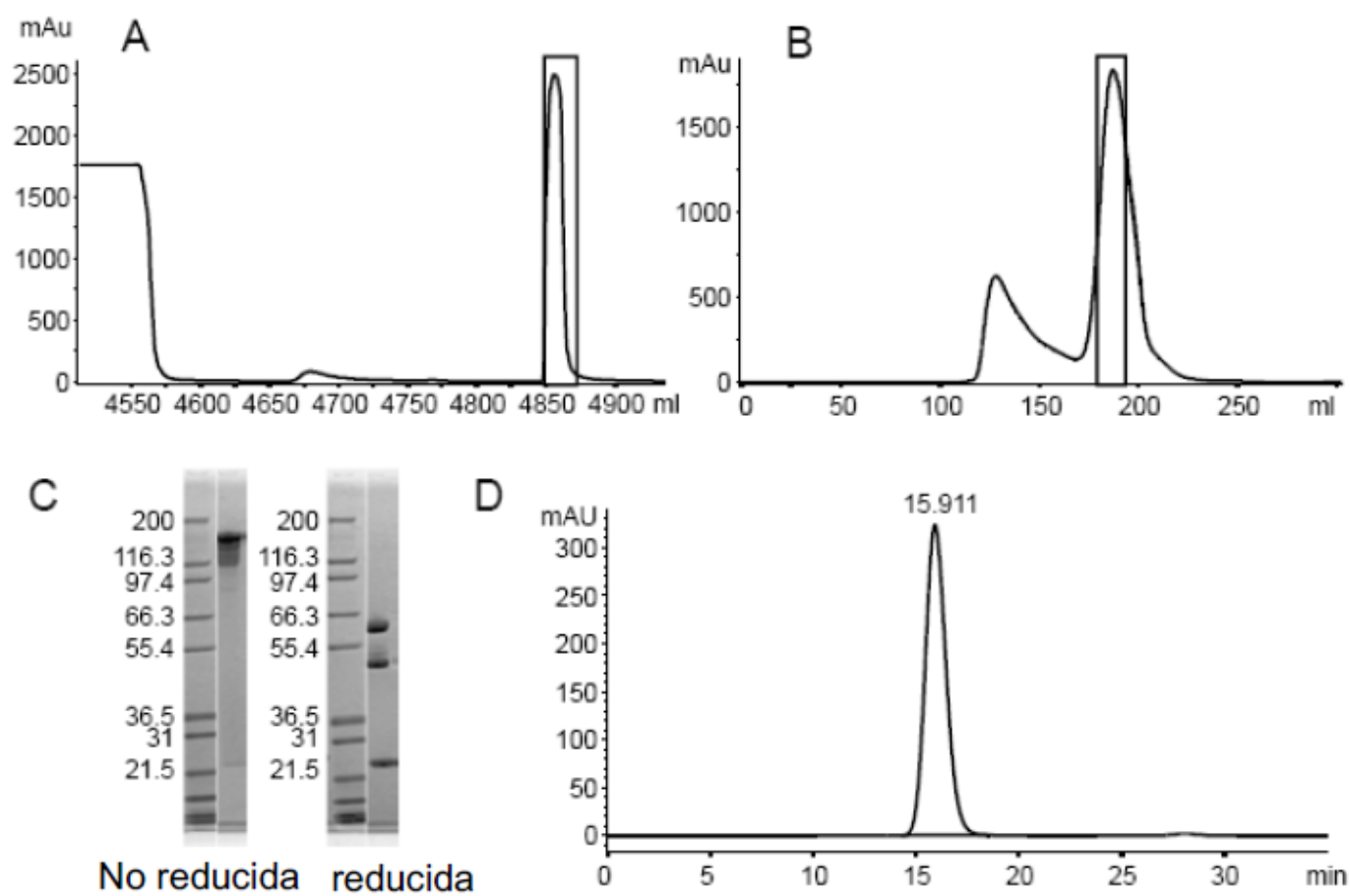


FIGURA 10

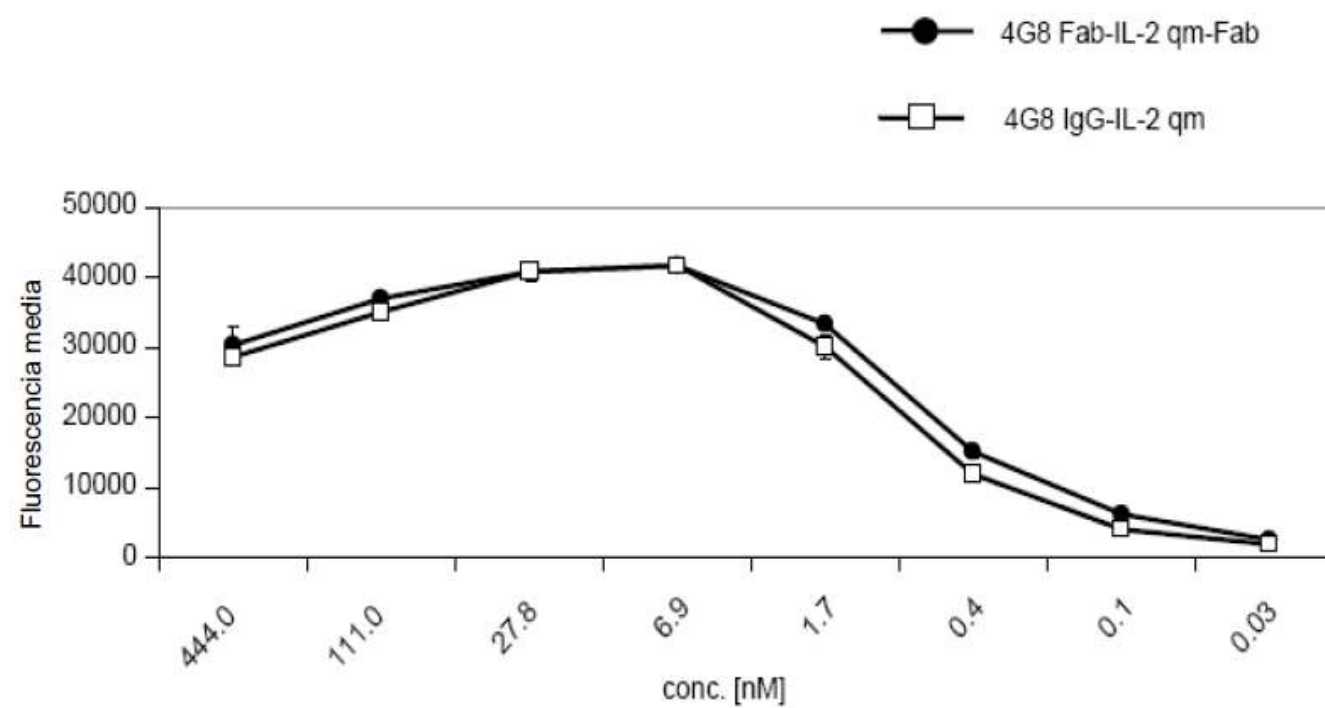


FIGURA 11

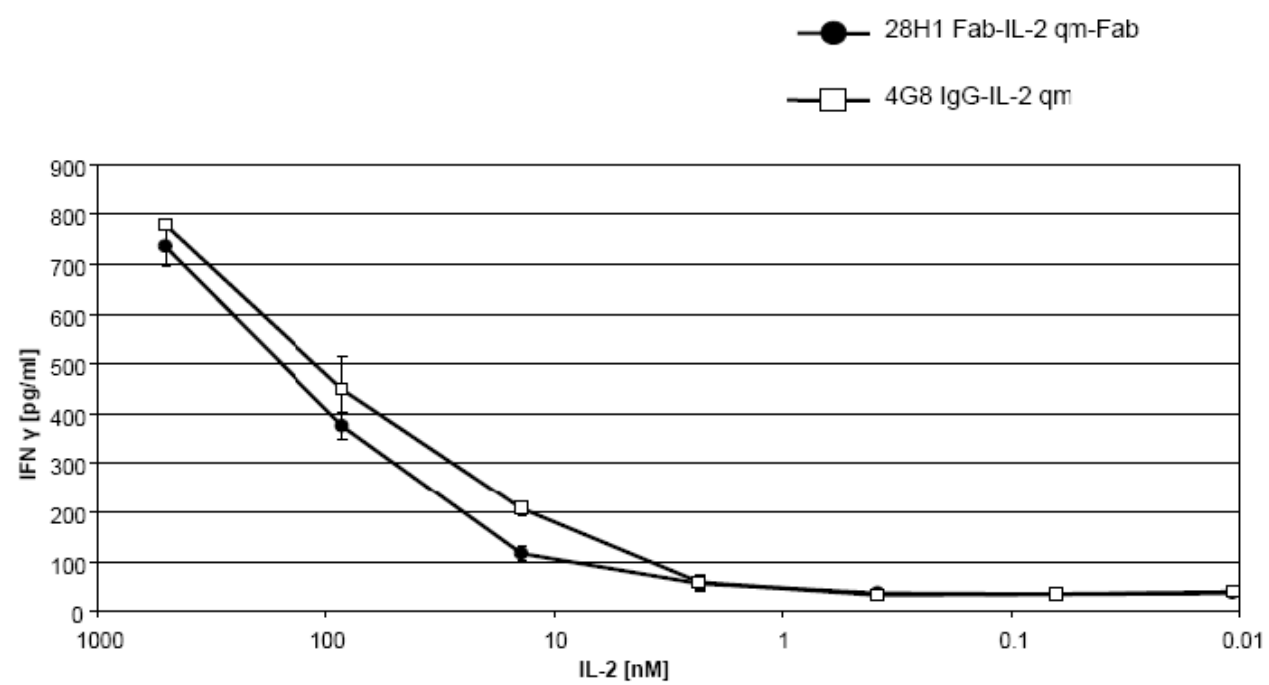


FIGURA 12

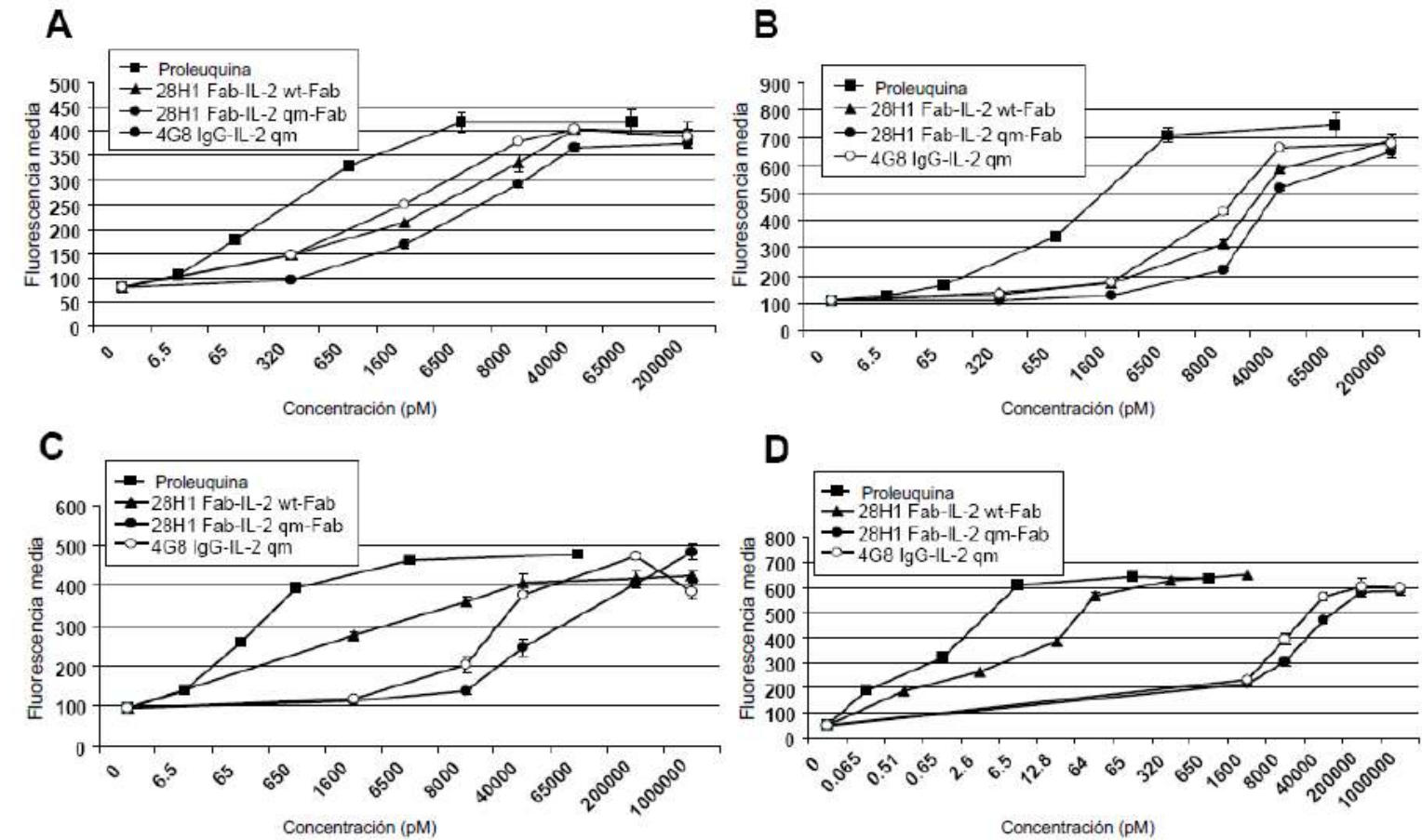


FIGURA 13

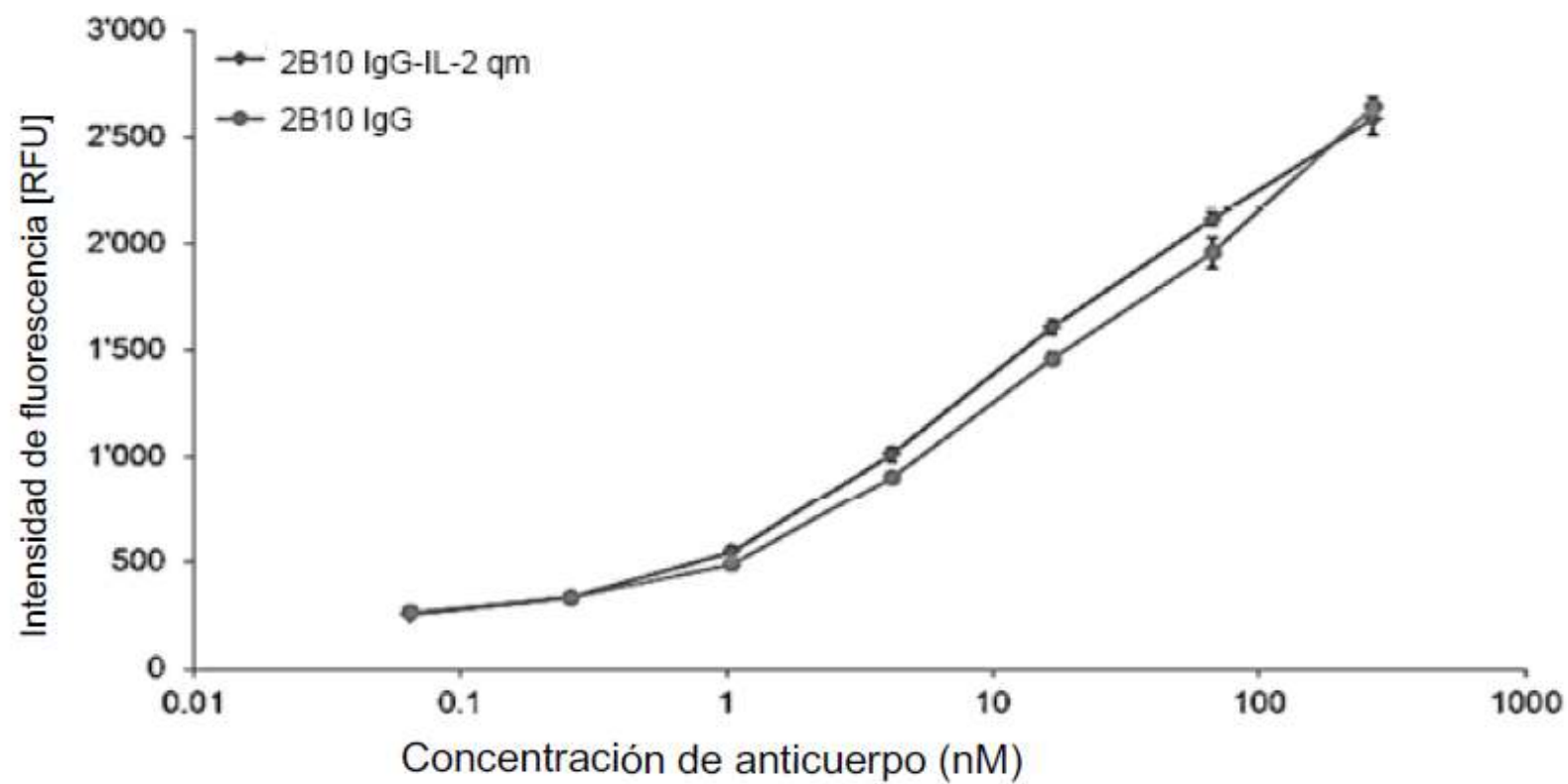


FIGURA 14

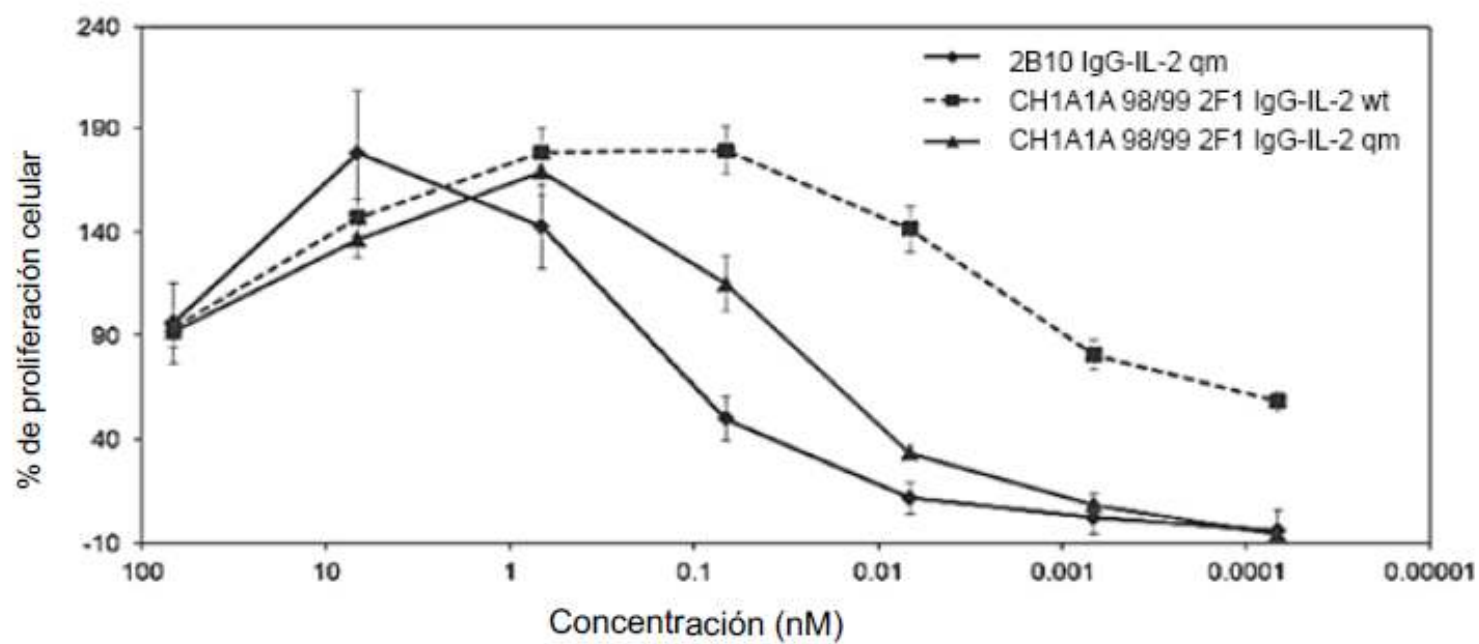


FIGURA 15

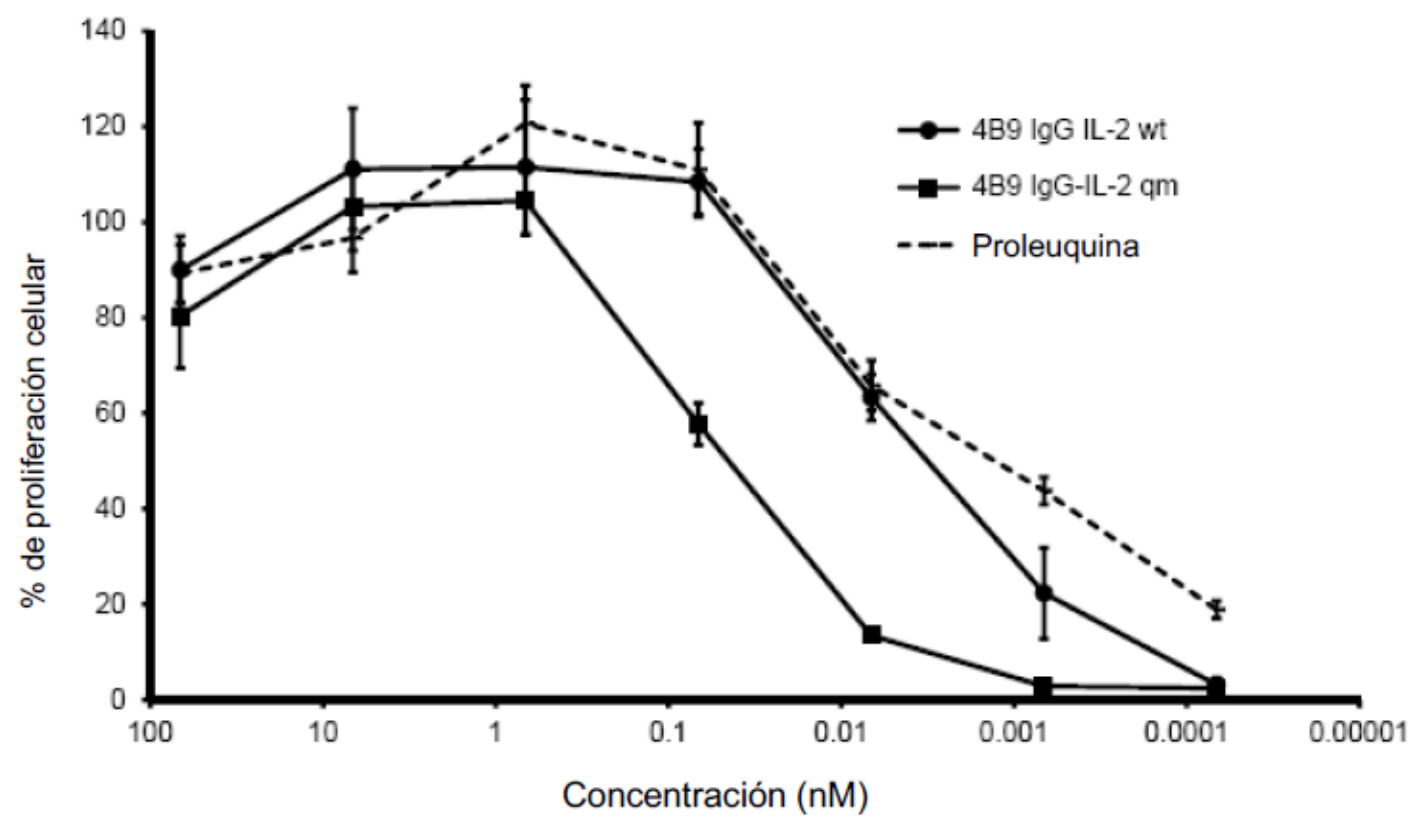


FIGURA 16

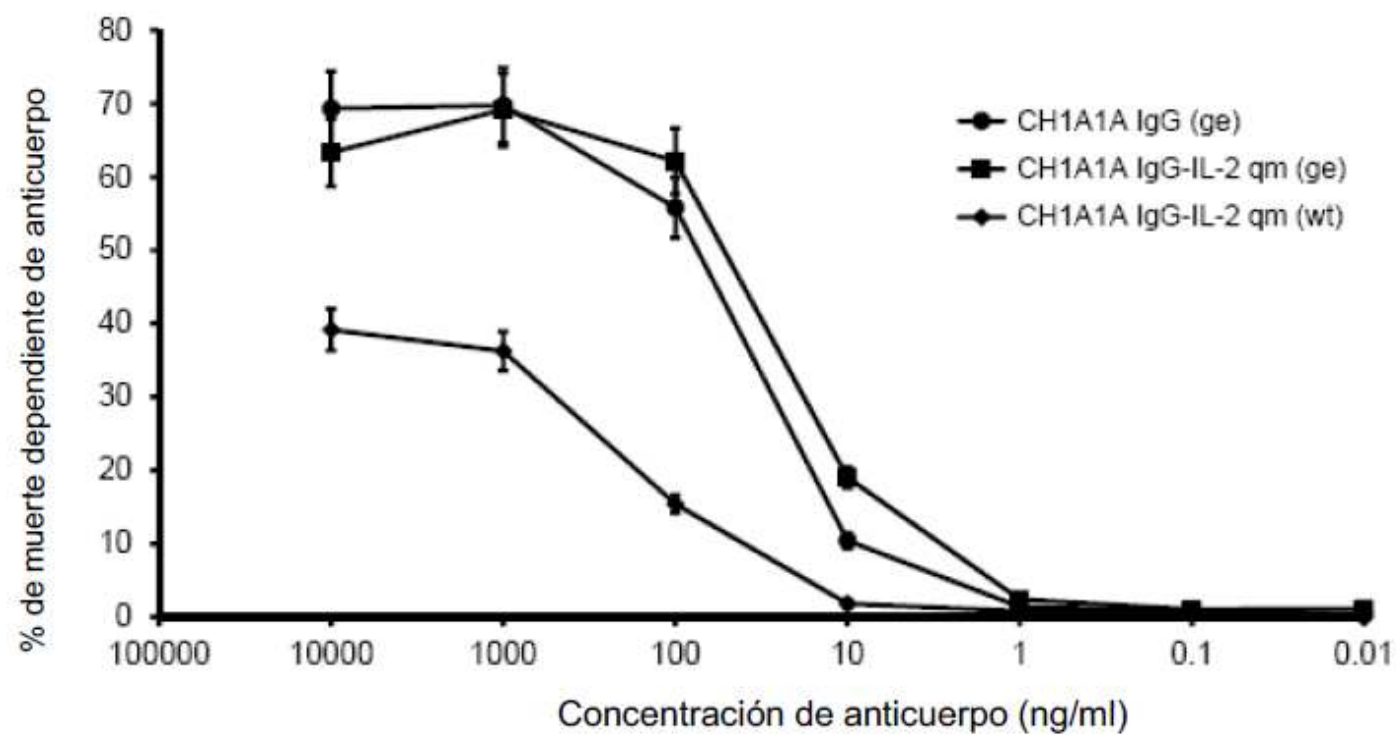


FIGURA 17

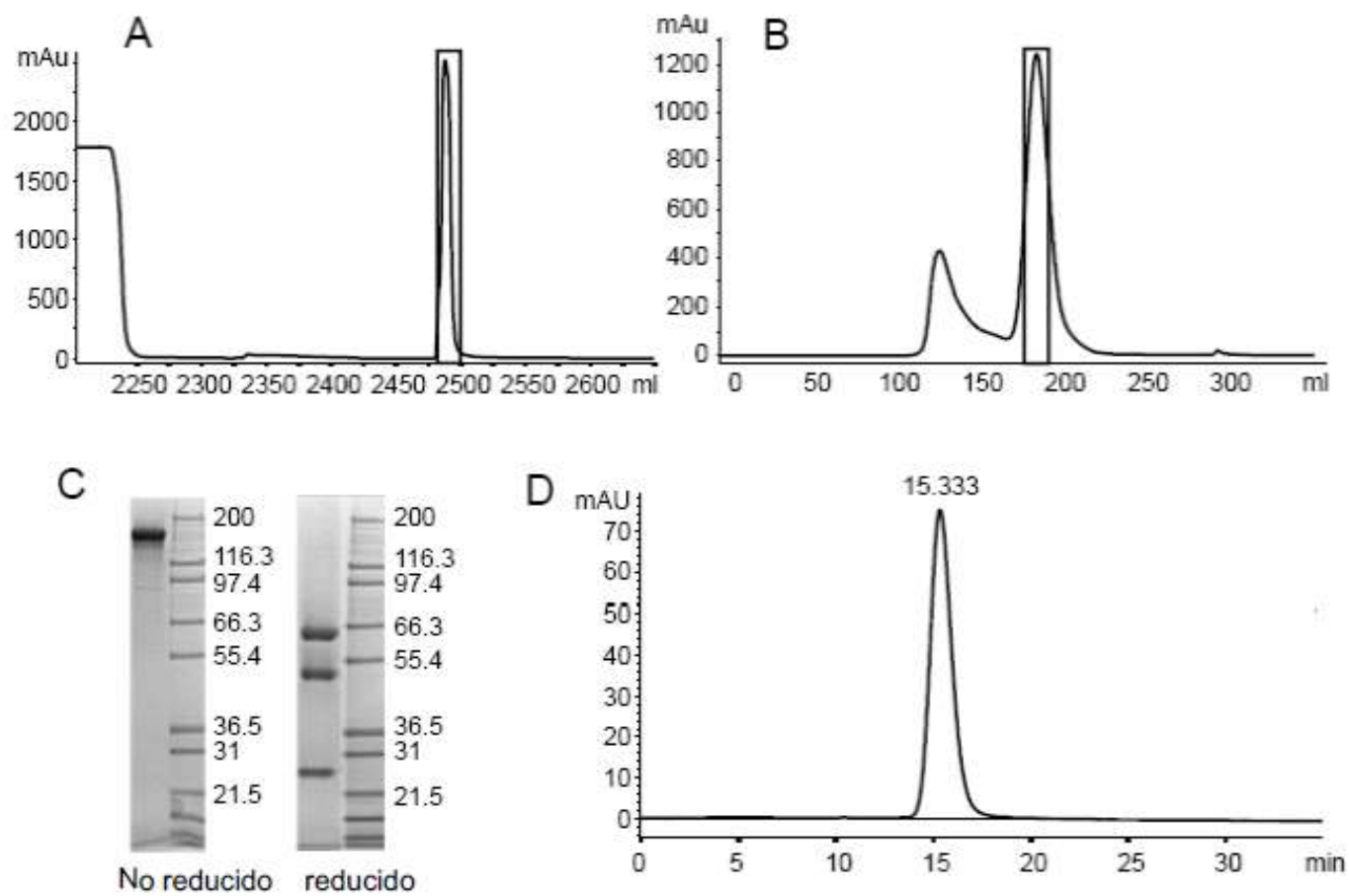


FIGURA 18

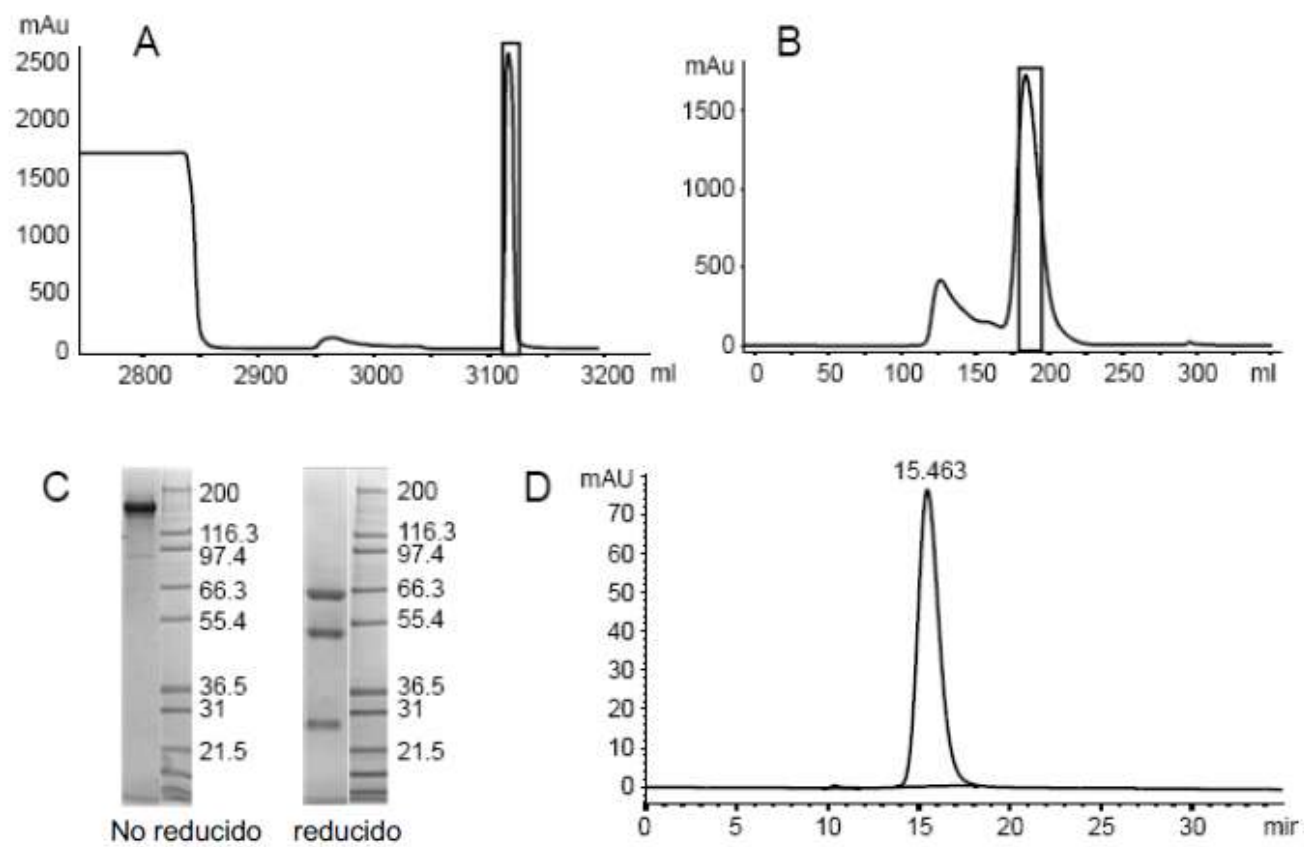


FIGURA 19

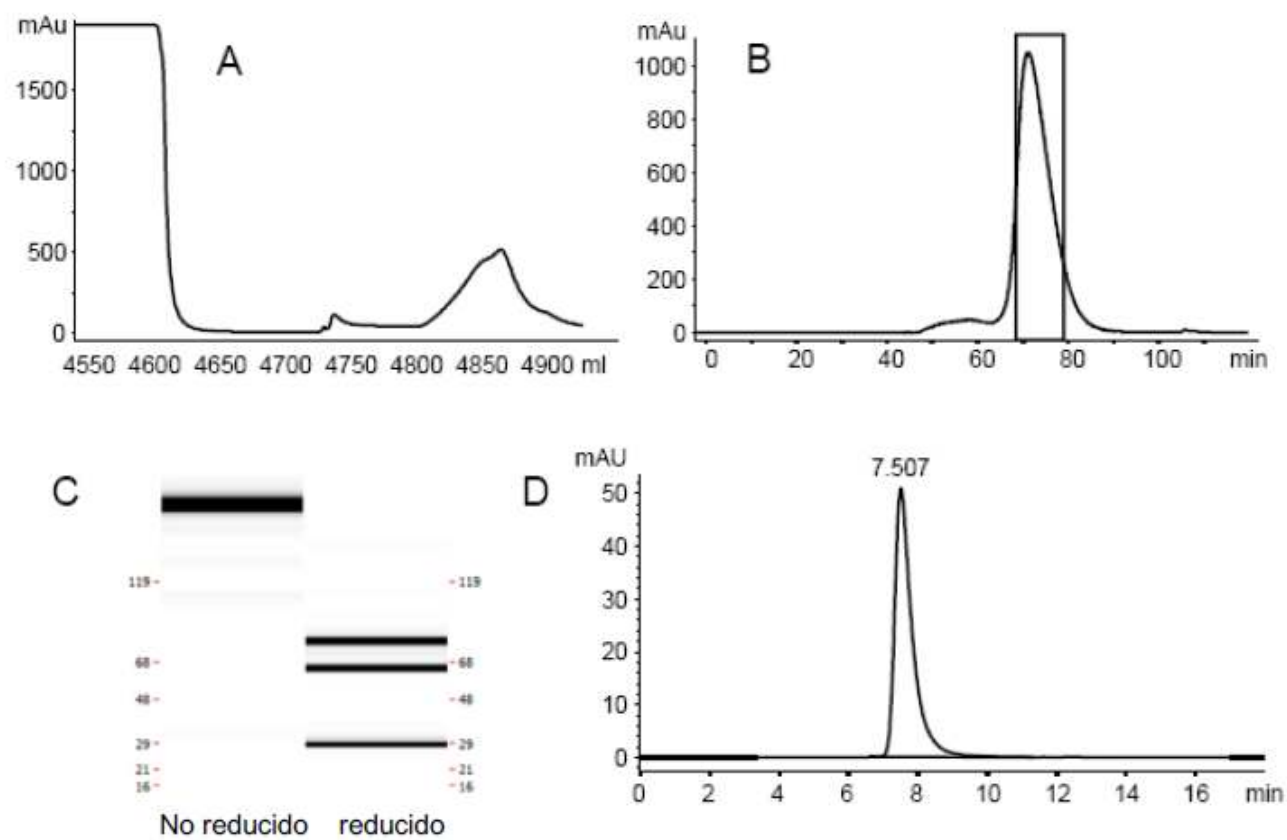


FIGURA 20

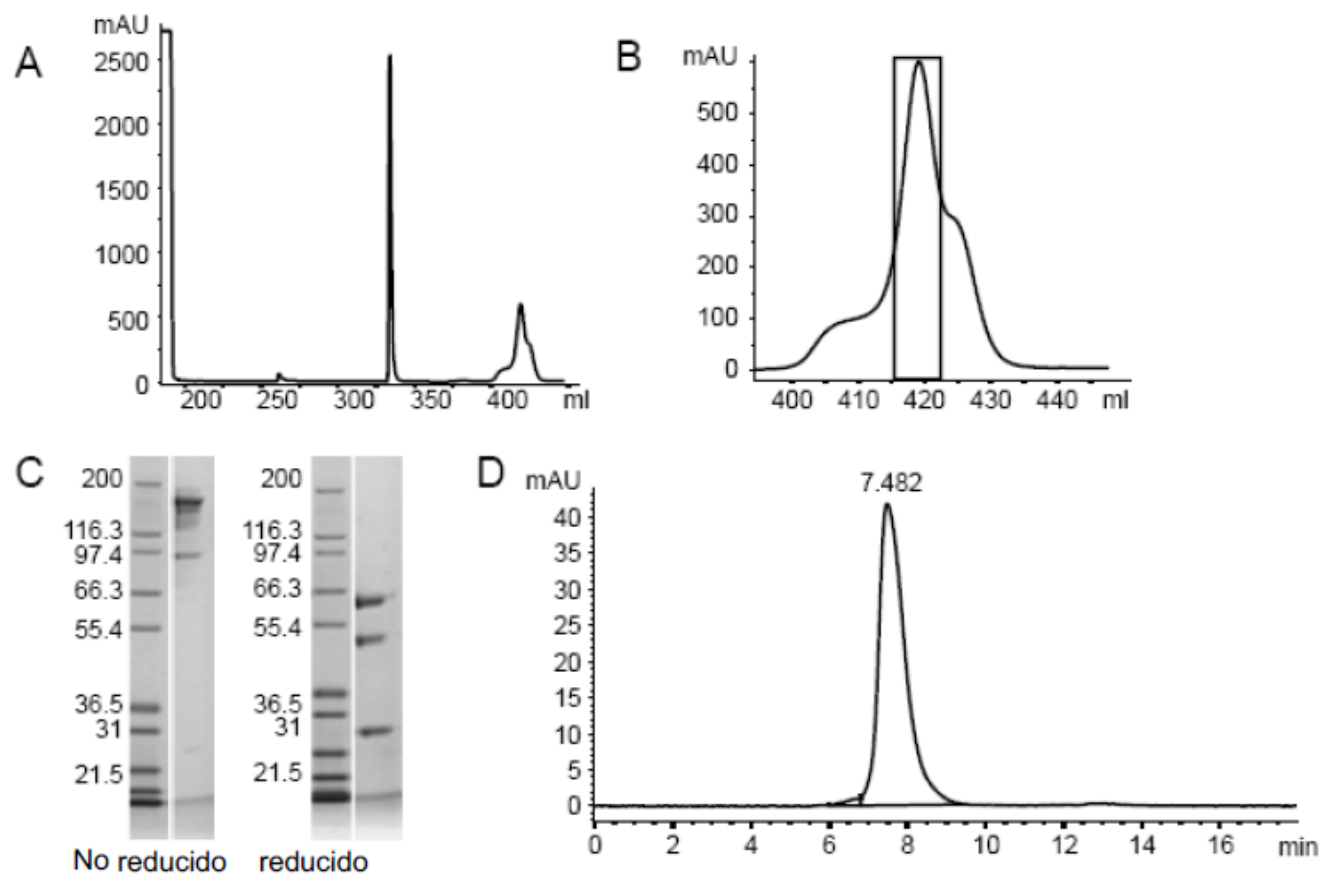


FIGURA 21

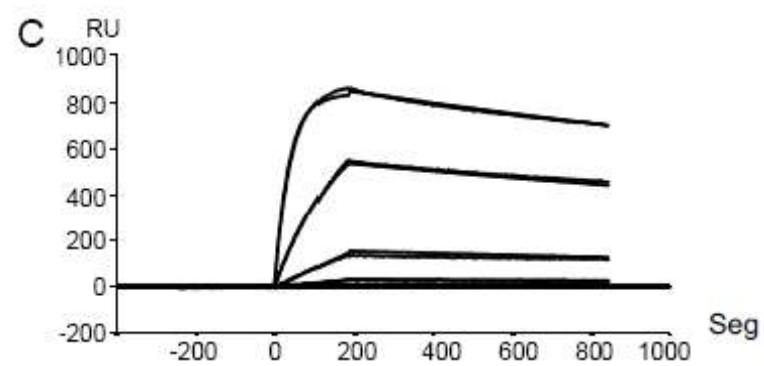
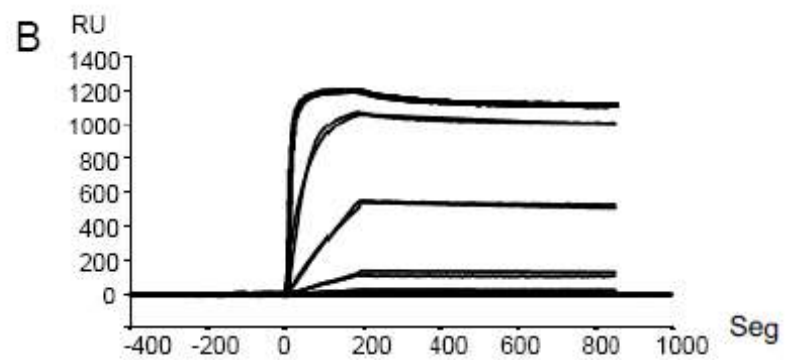
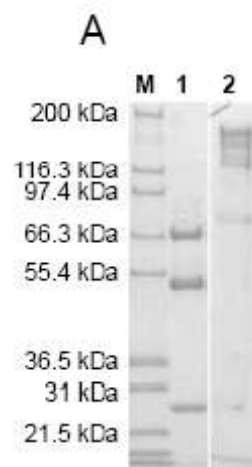


FIGURA 22

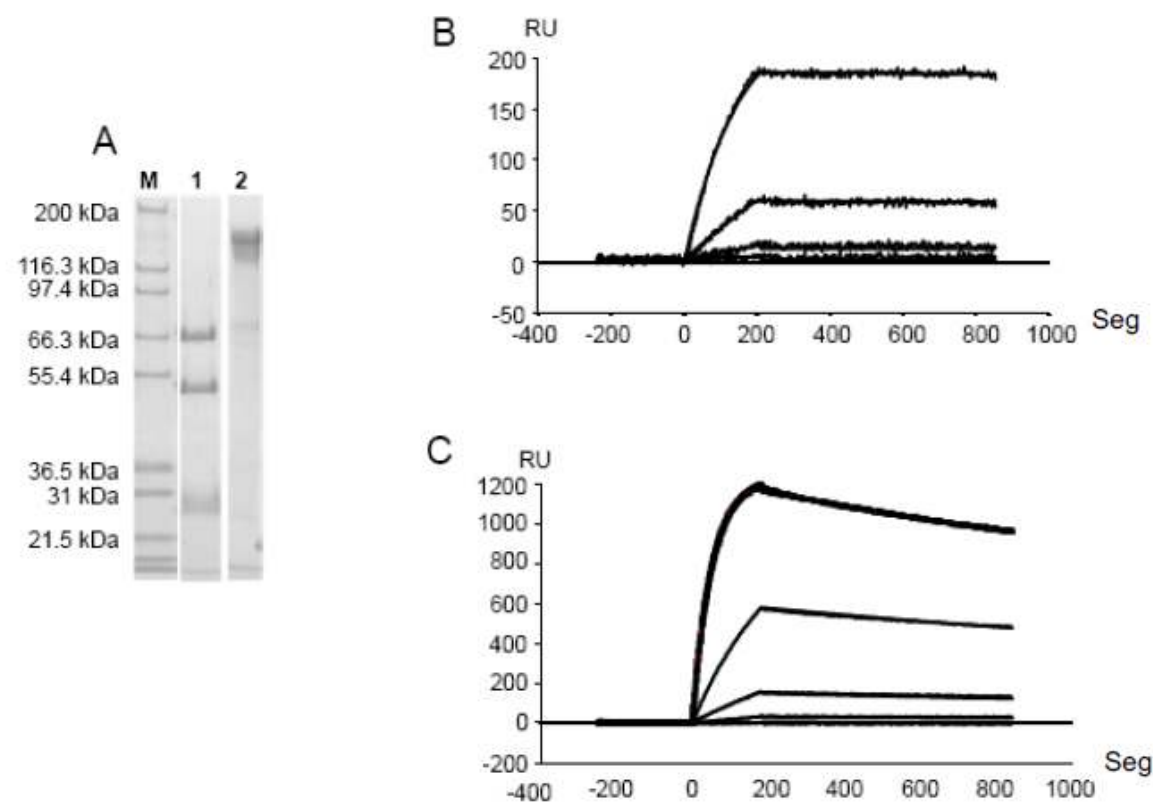


FIGURA 23

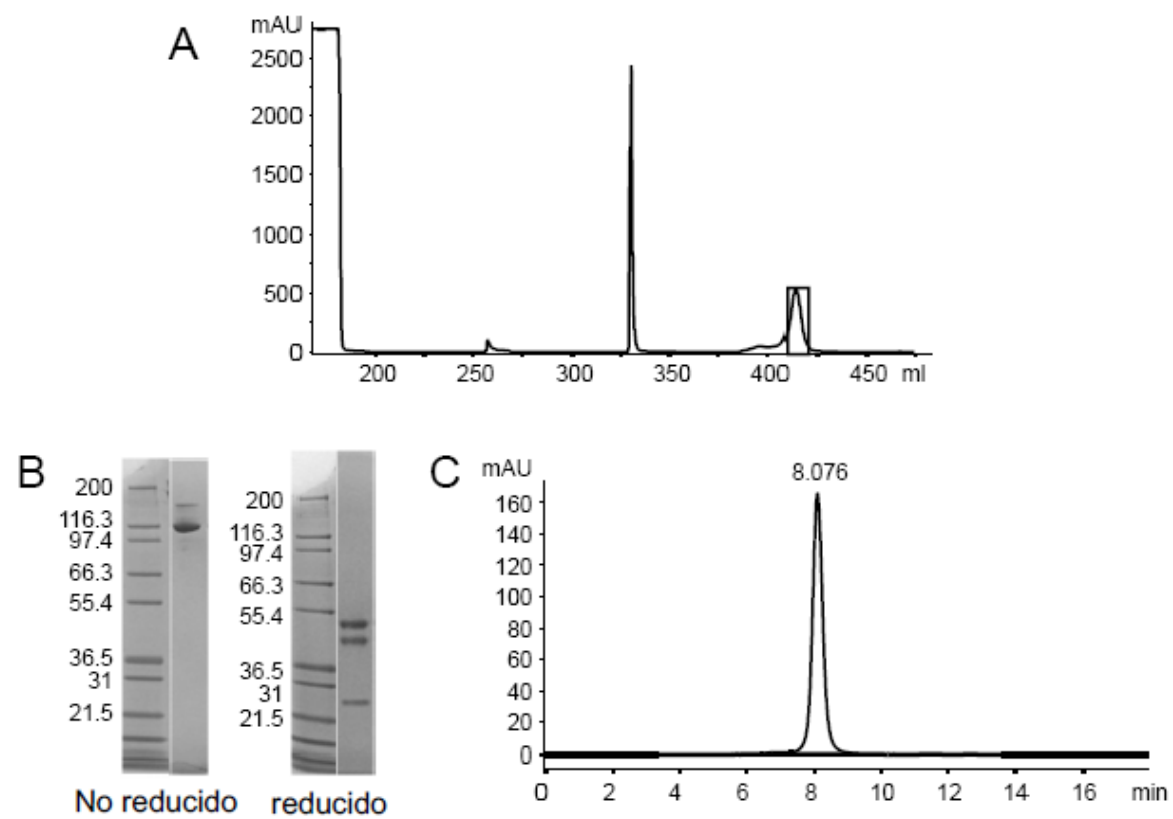


FIGURA 24

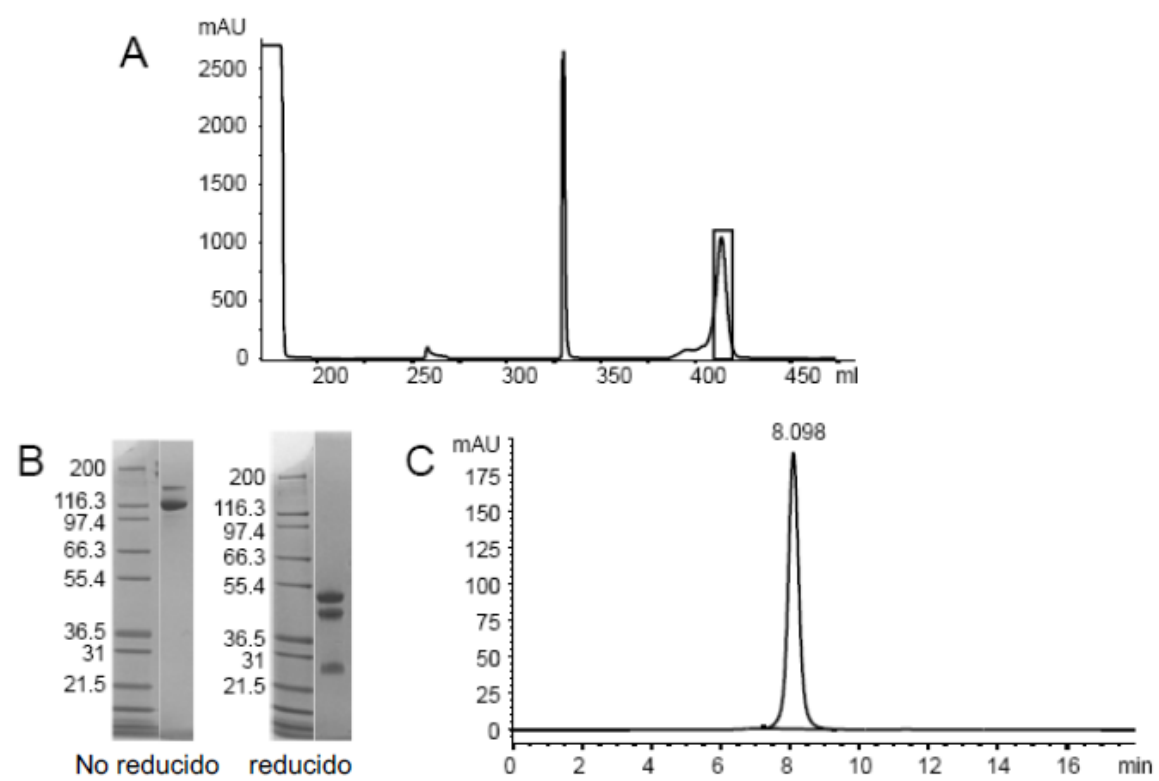


FIGURA 25

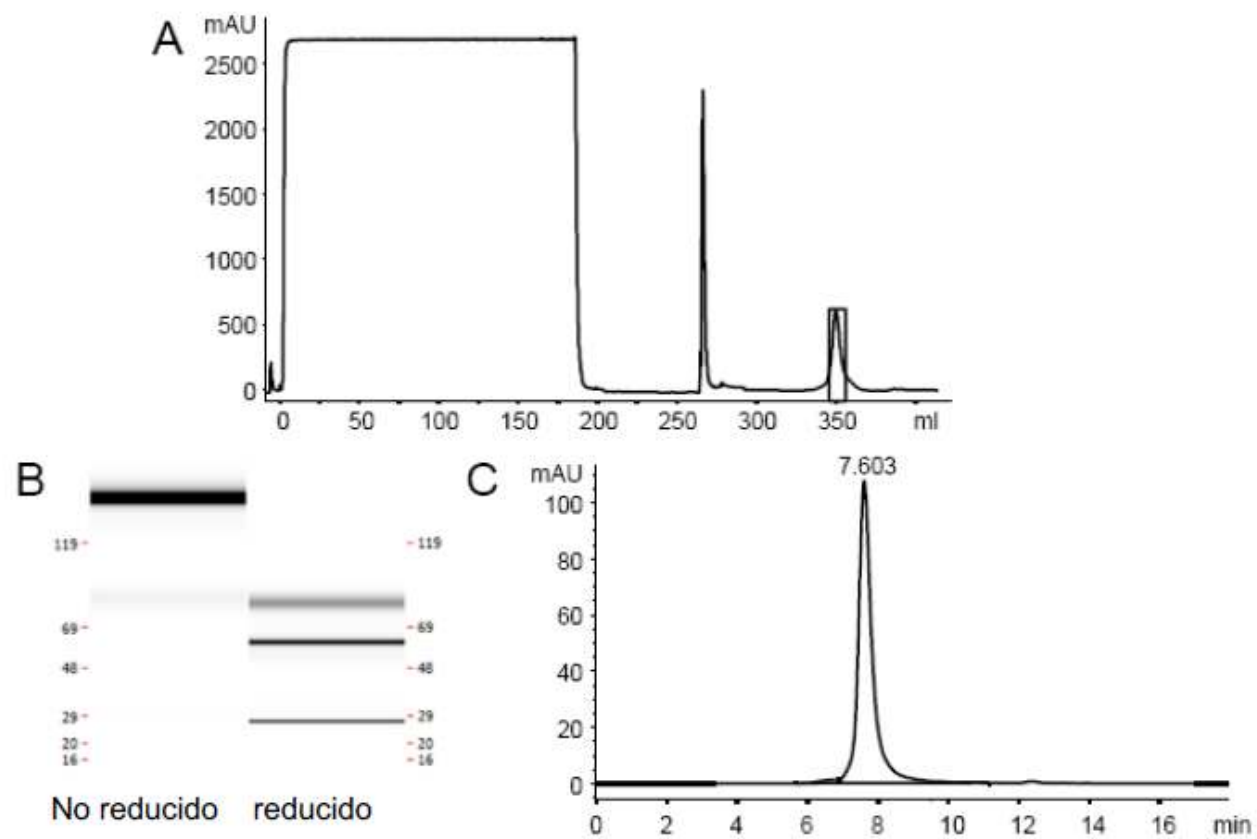


FIGURA 26

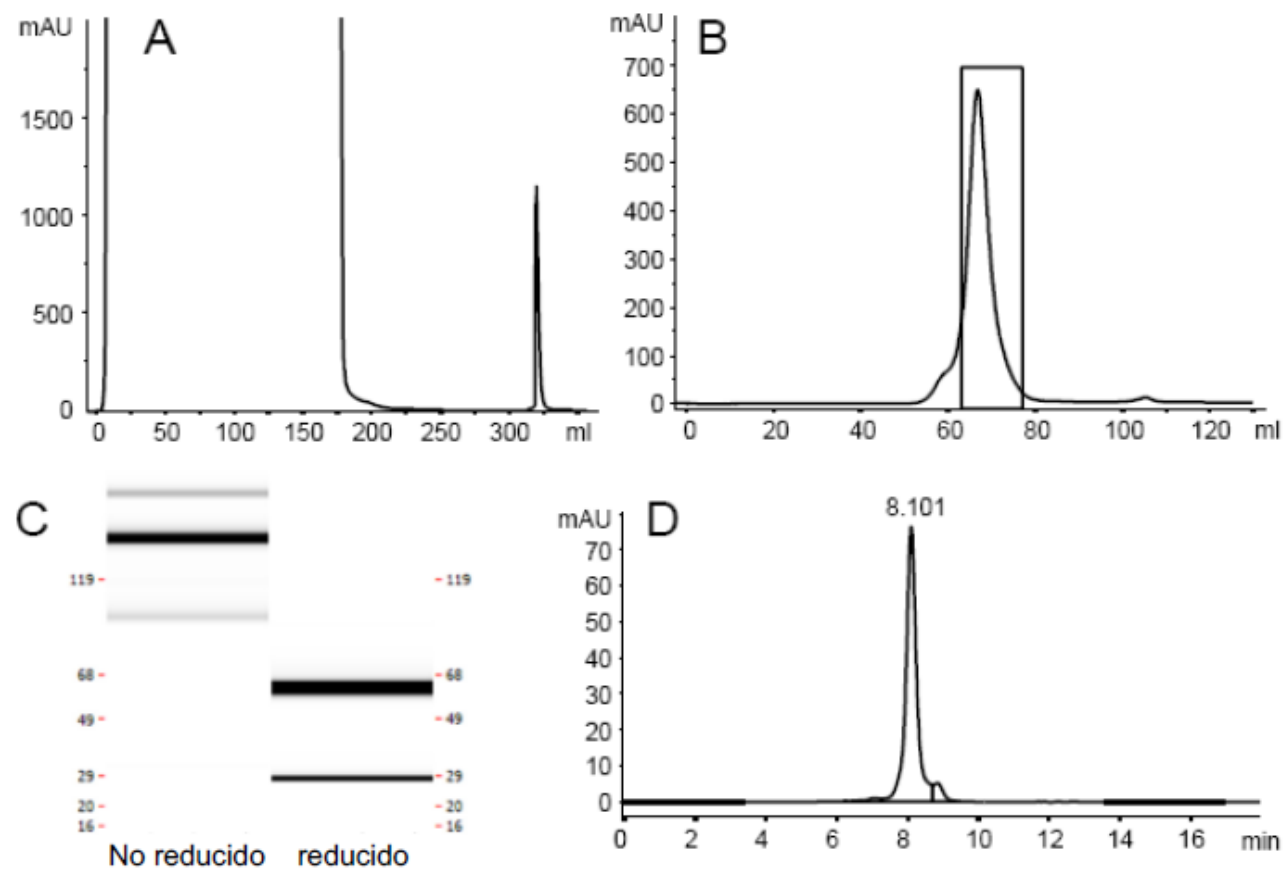


FIGURA 27

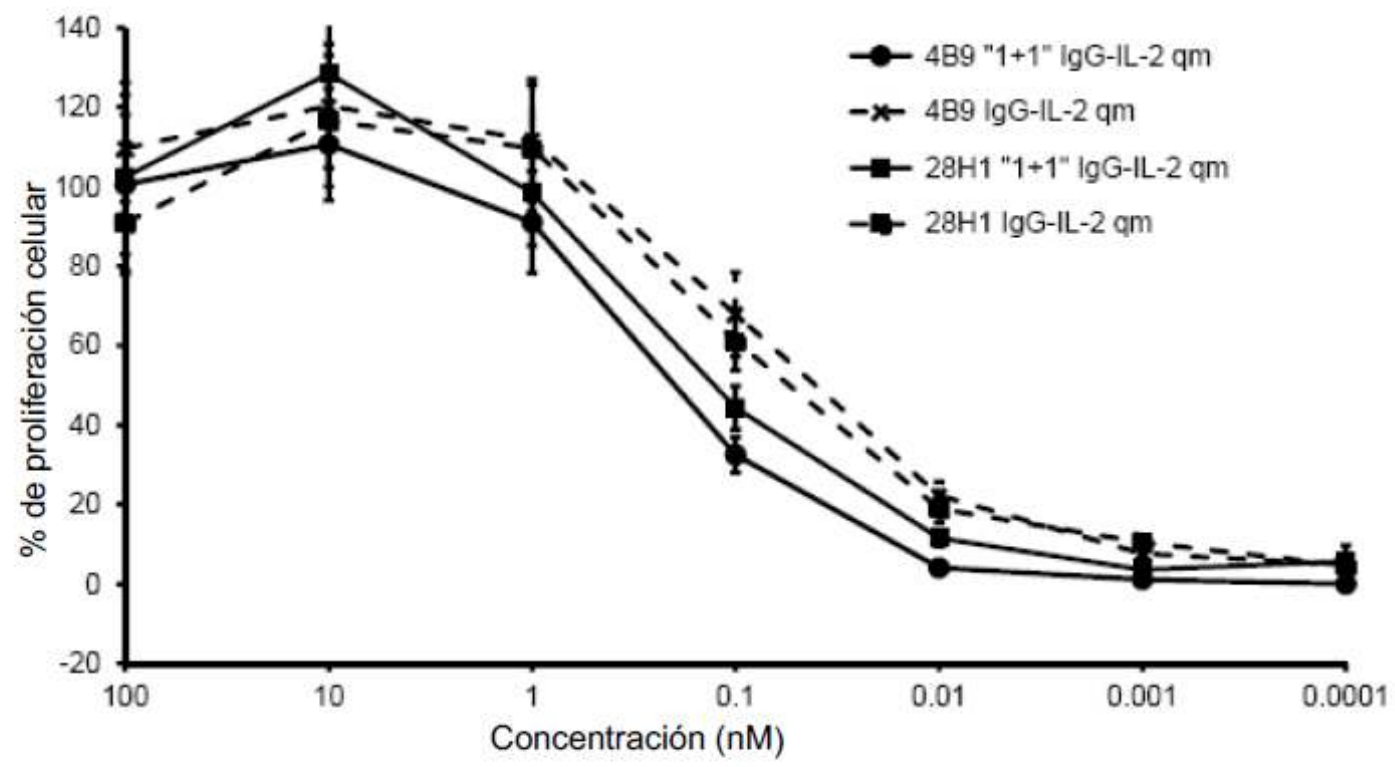


FIGURA 28

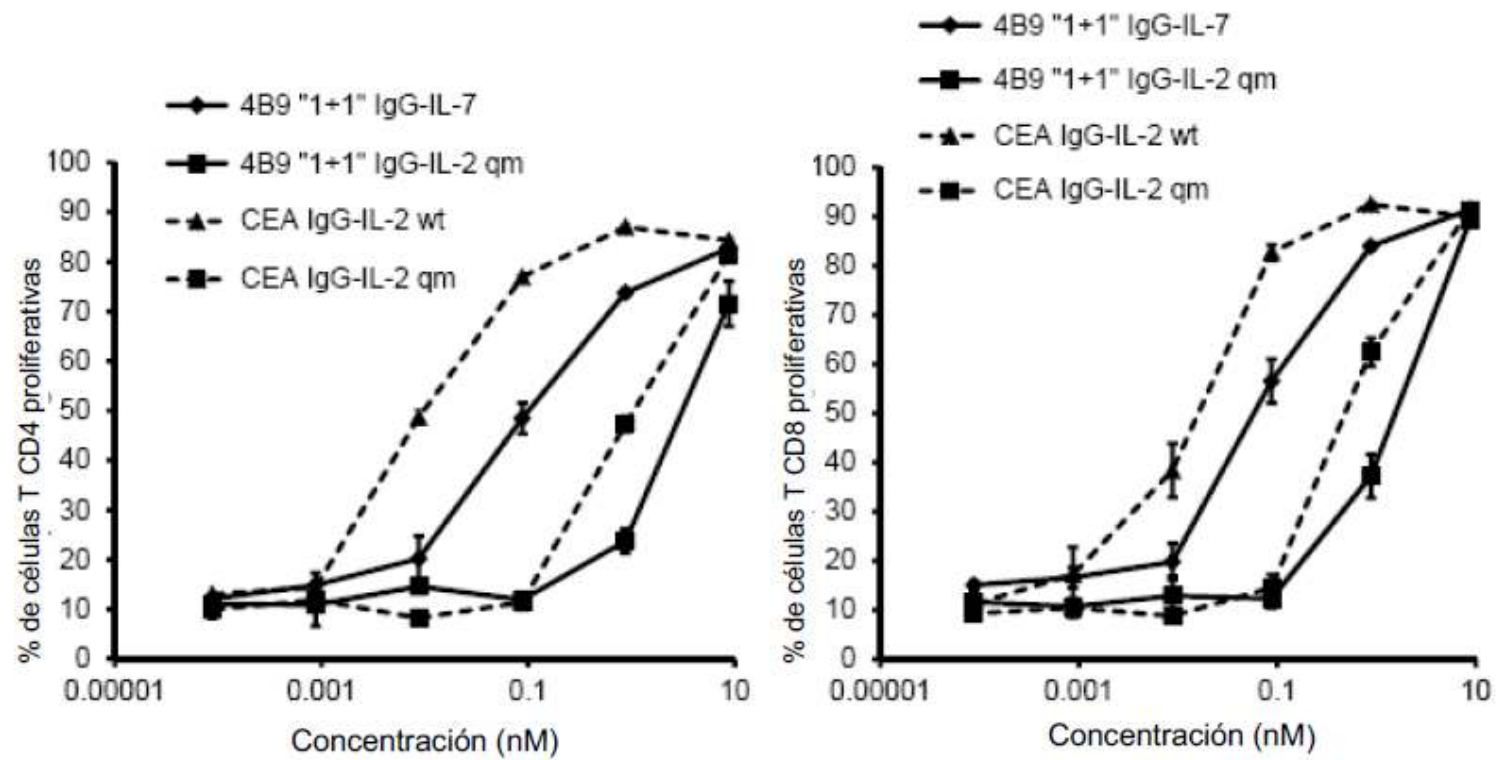


FIGURA 29

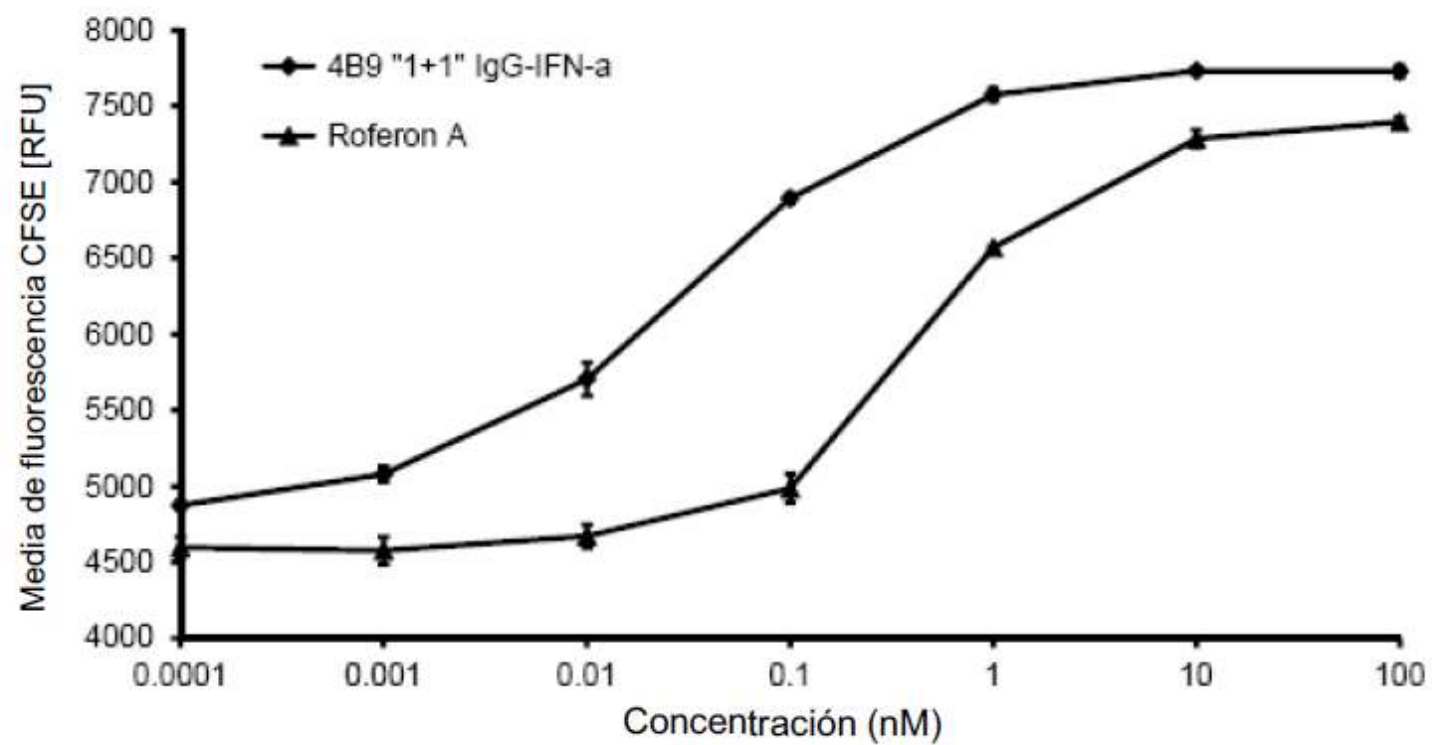


FIGURA 30

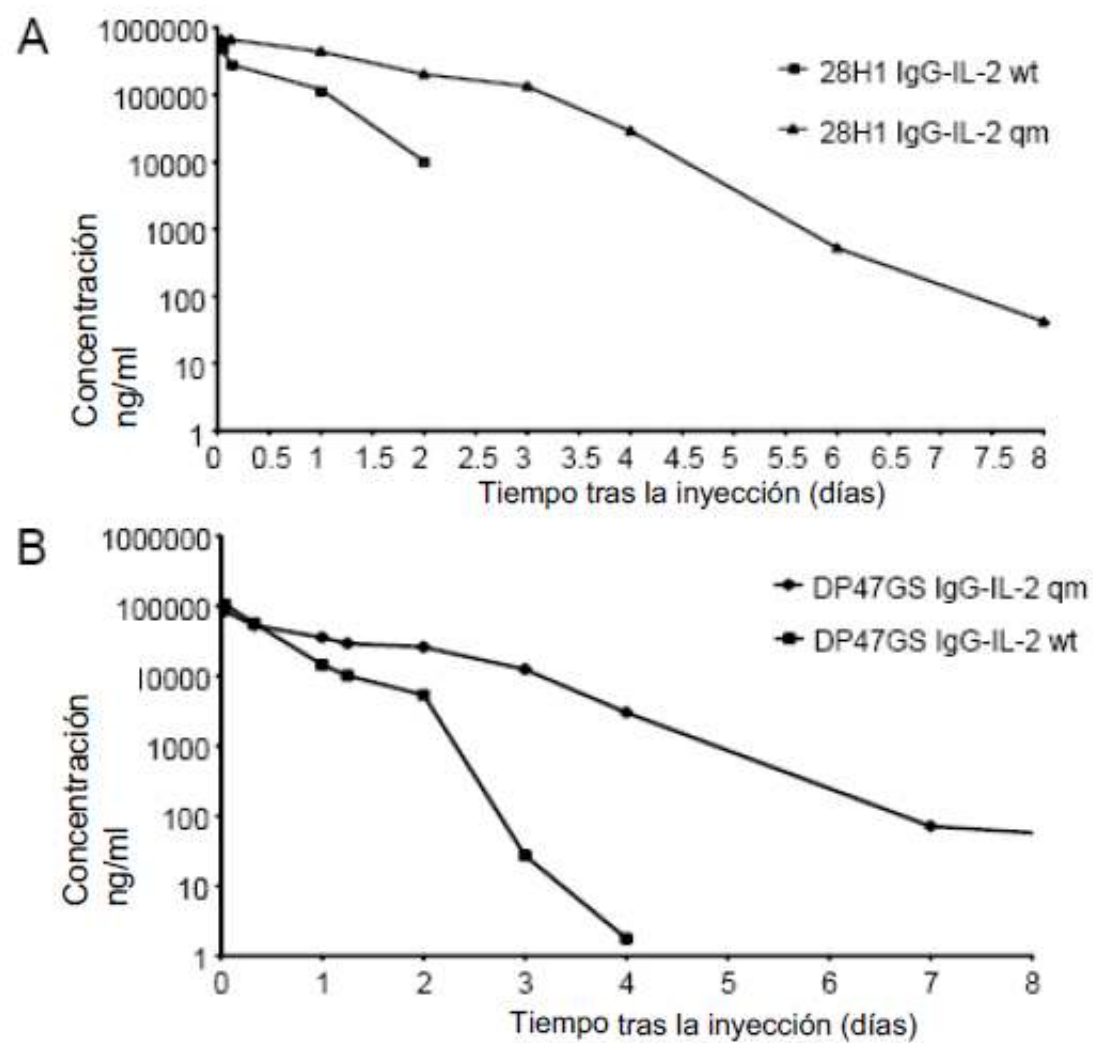


FIGURA 31

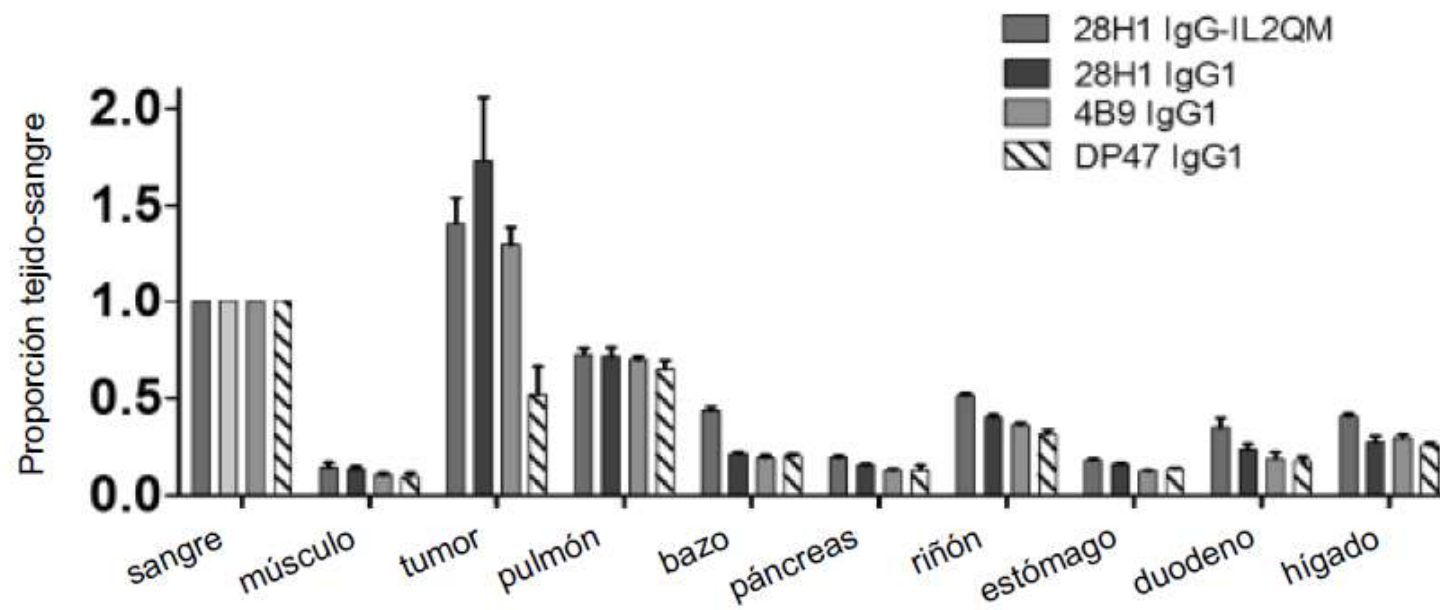


FIGURA 32

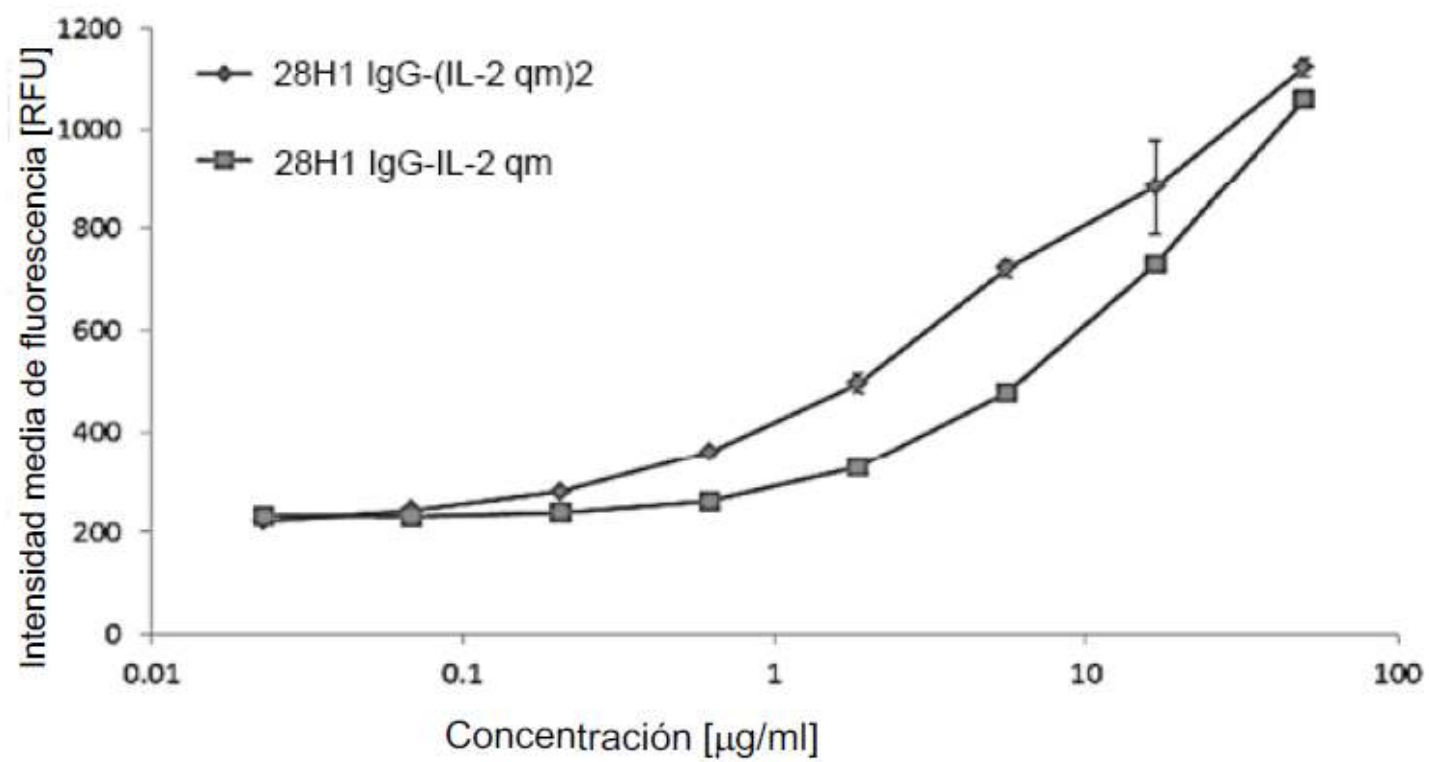


FIGURA 33

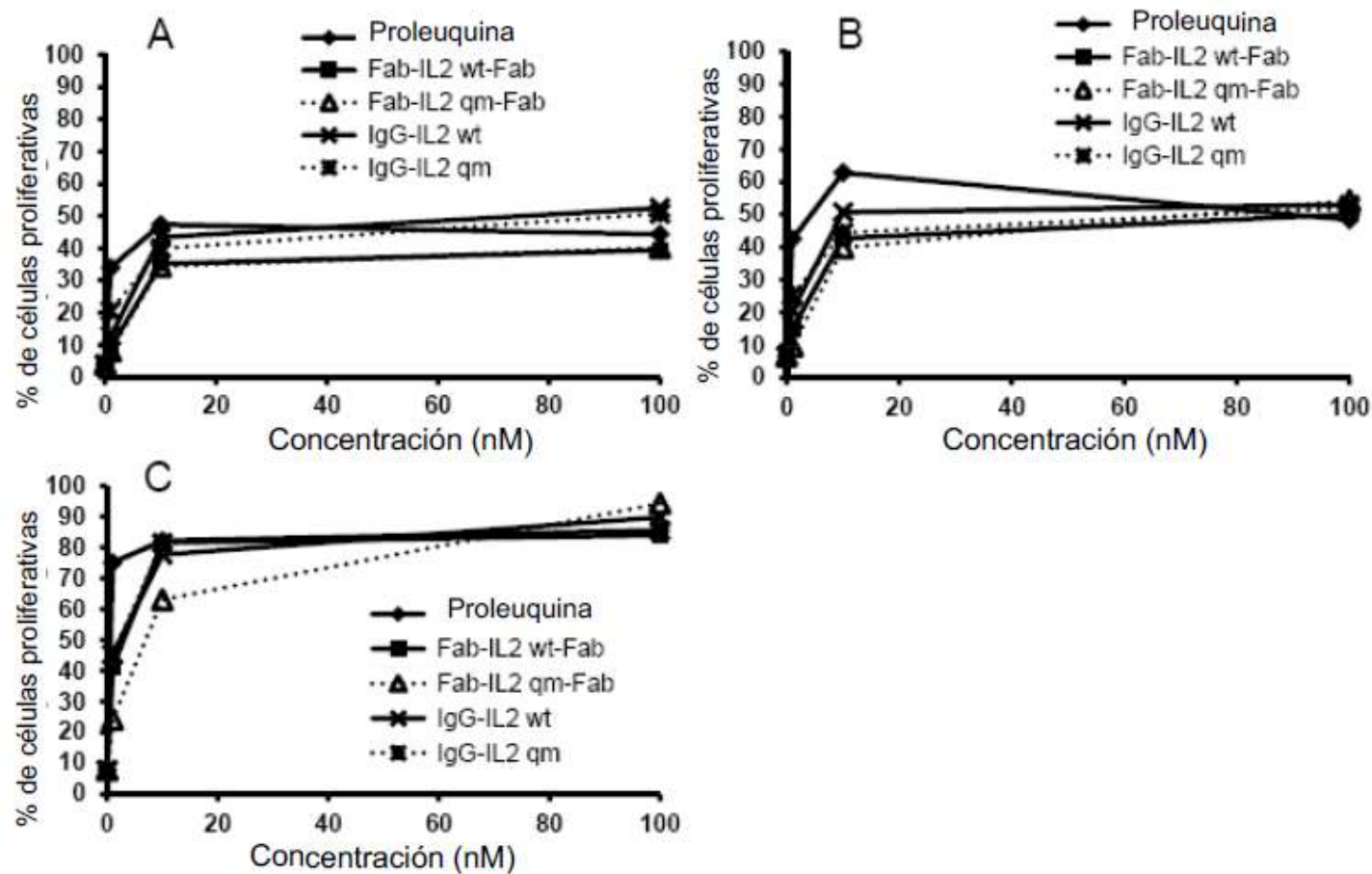


FIGURA 34

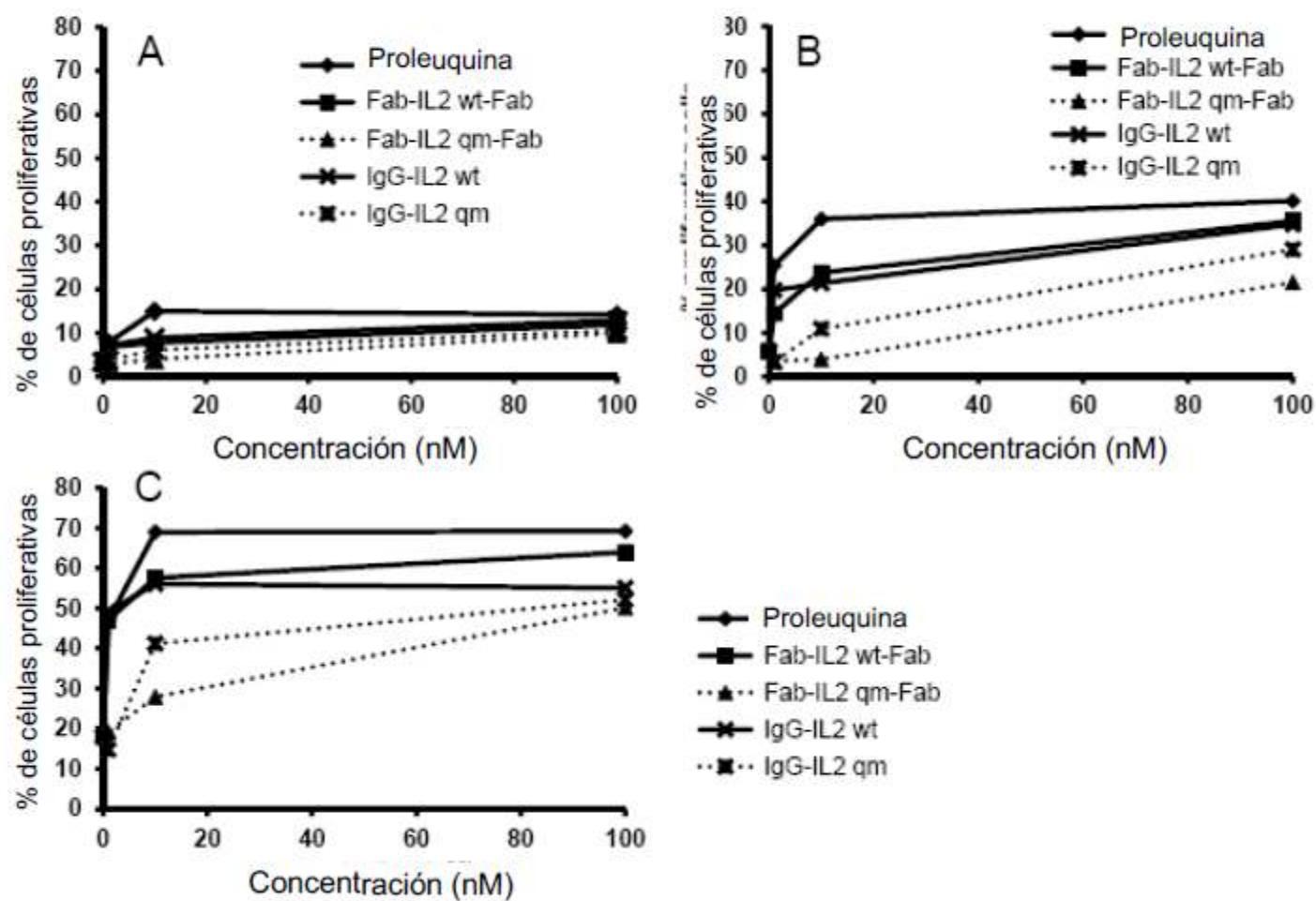


FIGURA 35

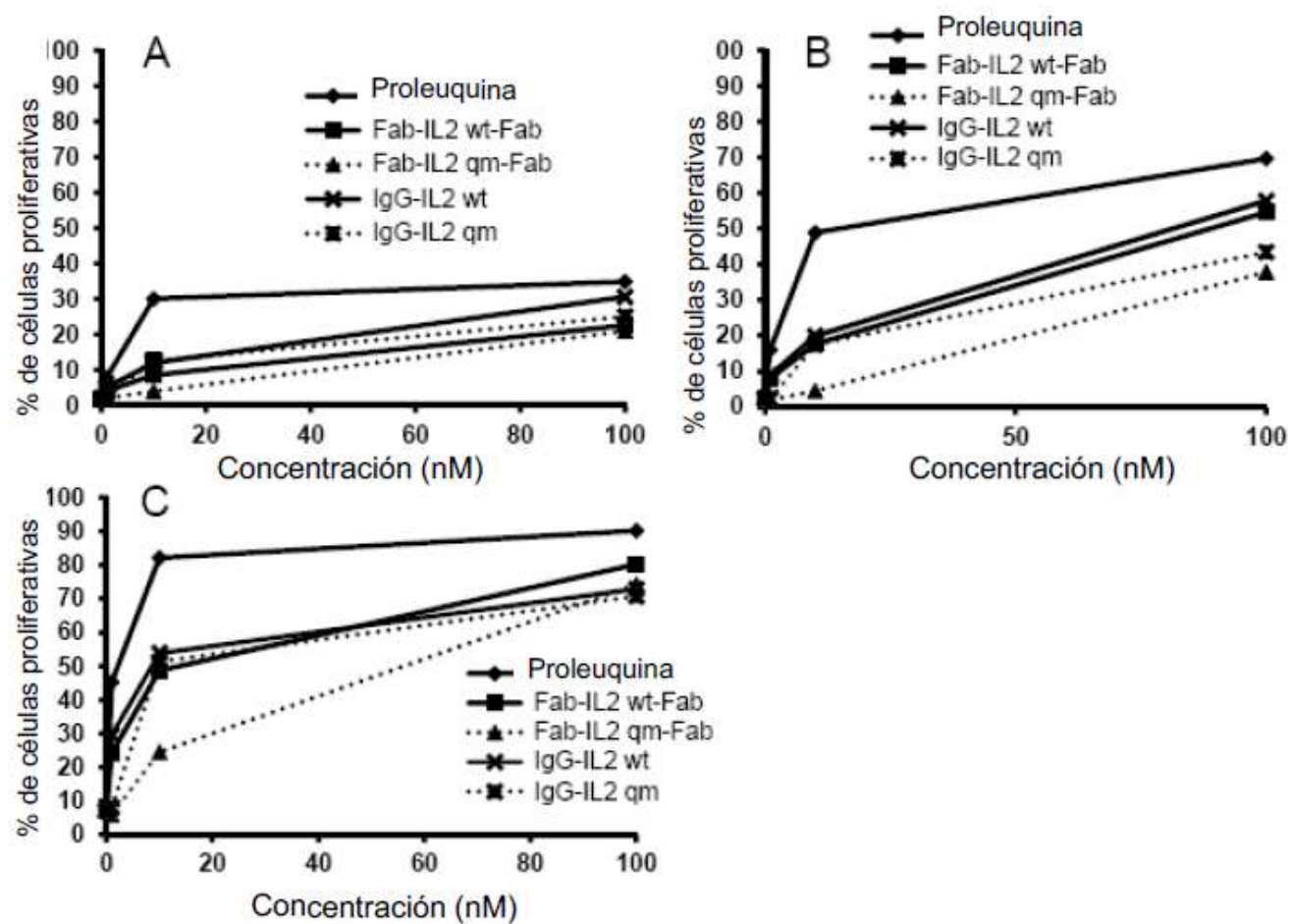


FIGURA 36

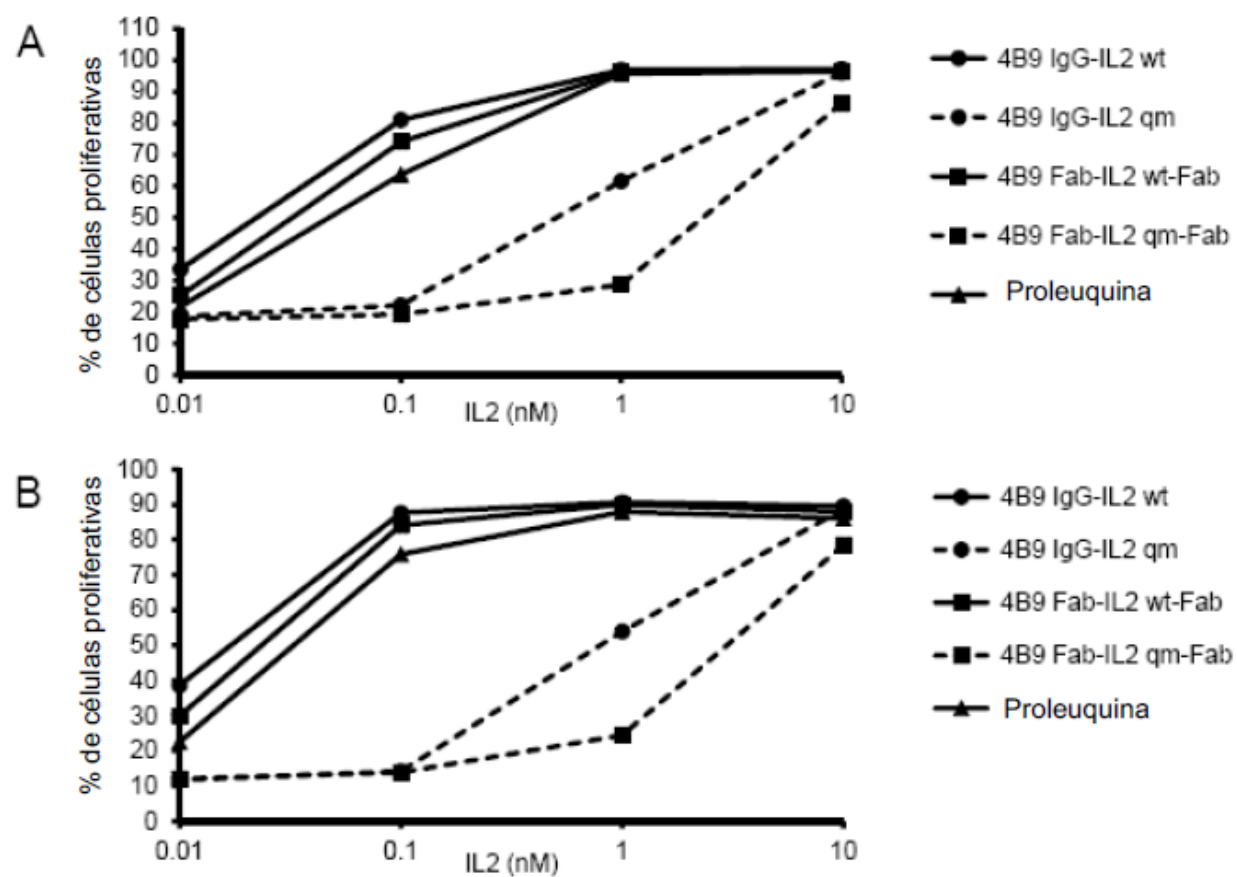
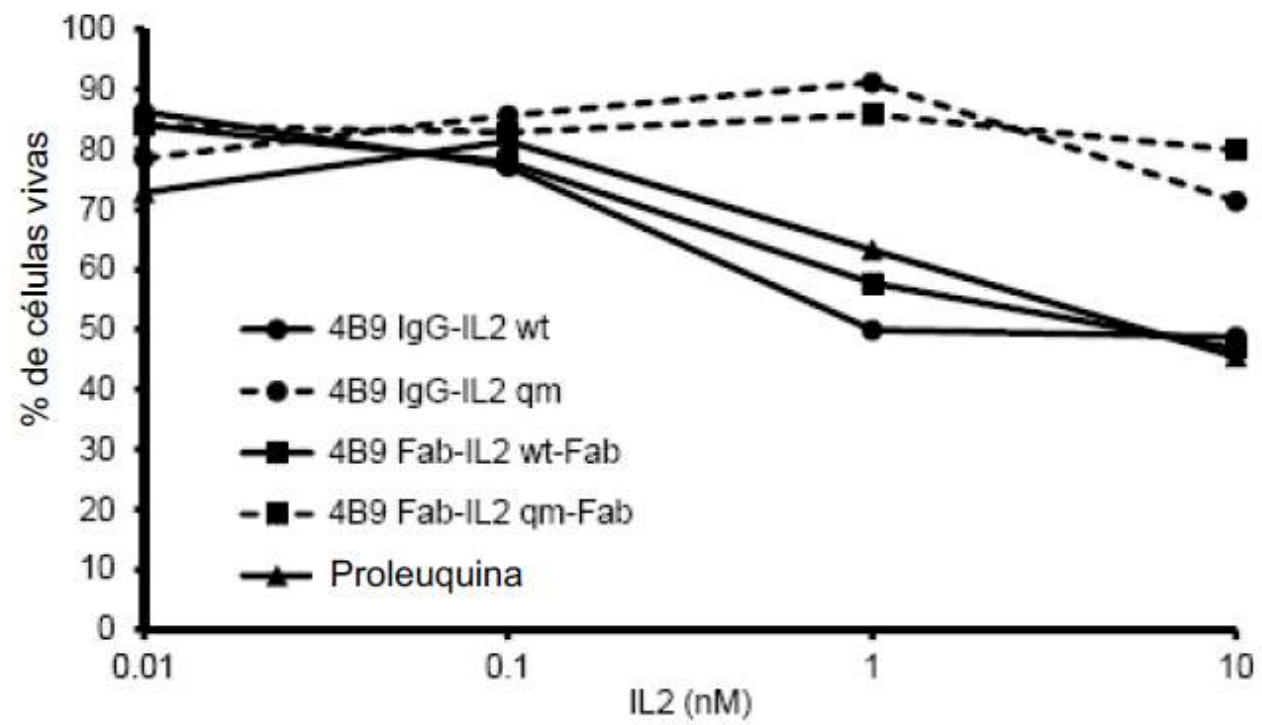


FIGURA 37



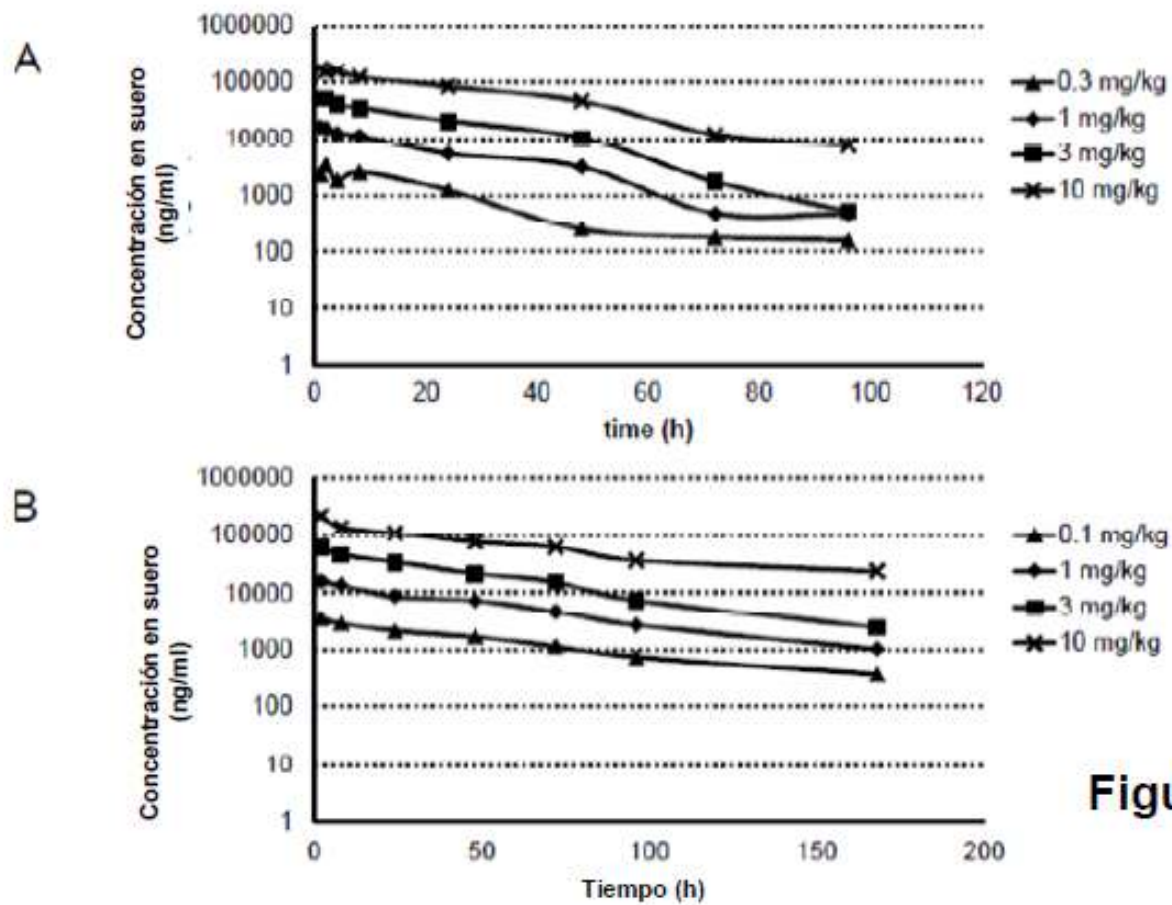
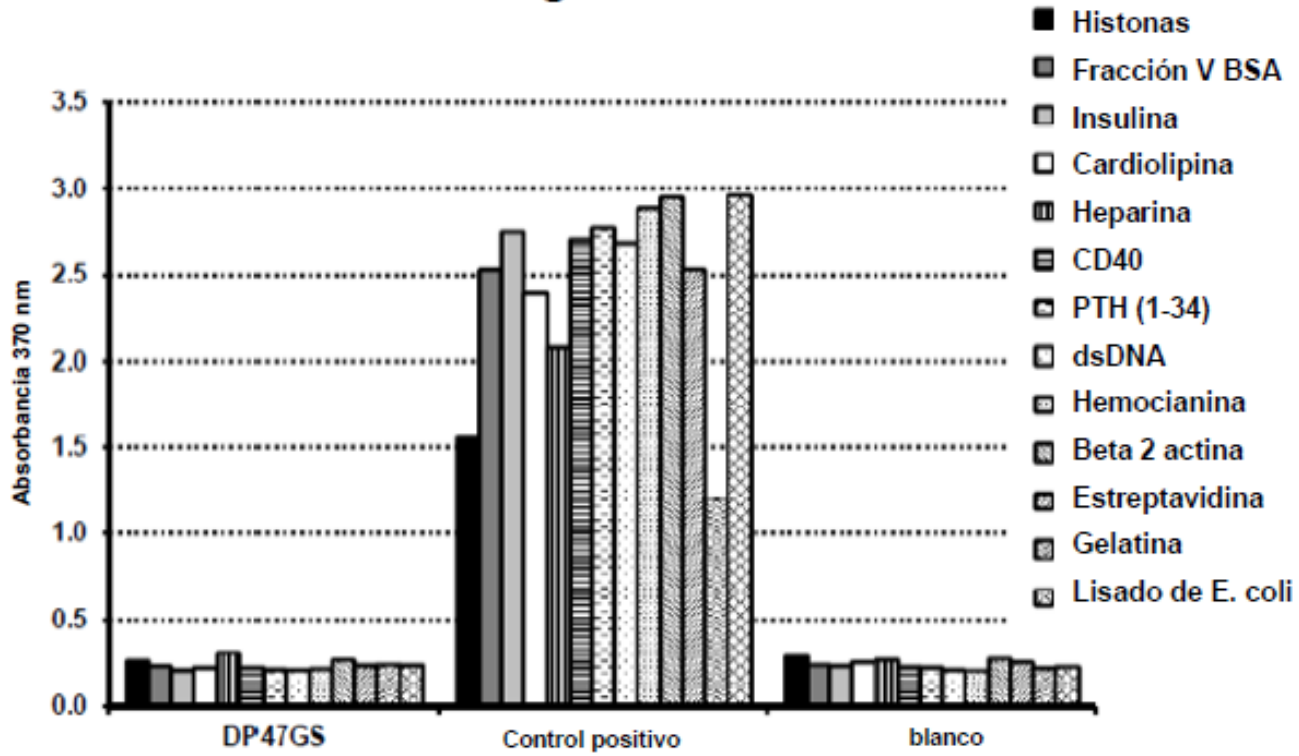


Figura 38

Figura 39



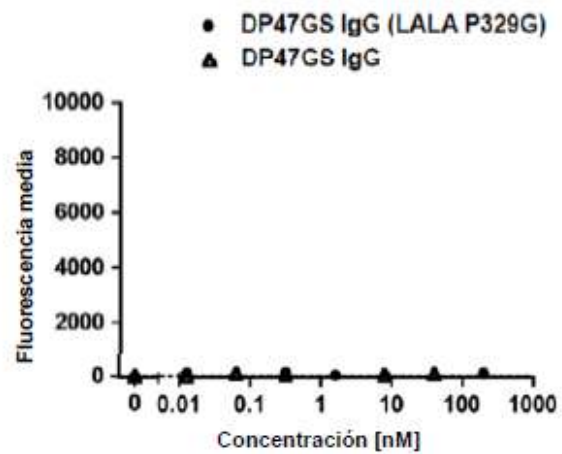
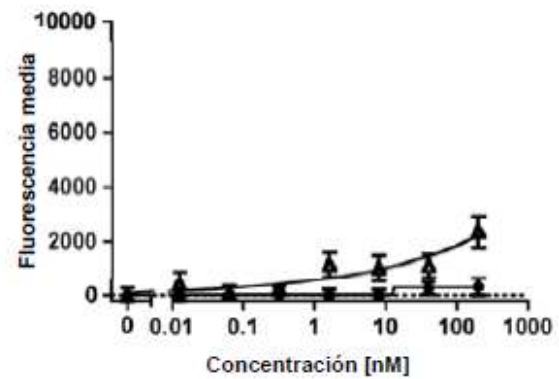
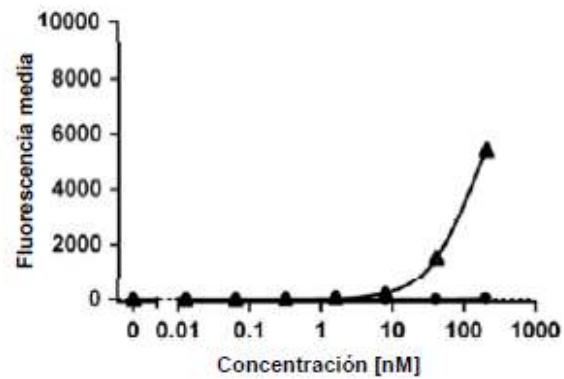
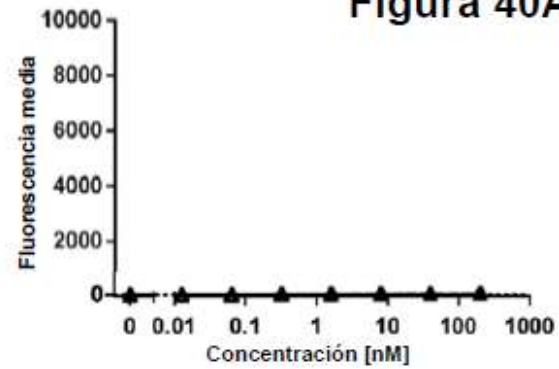
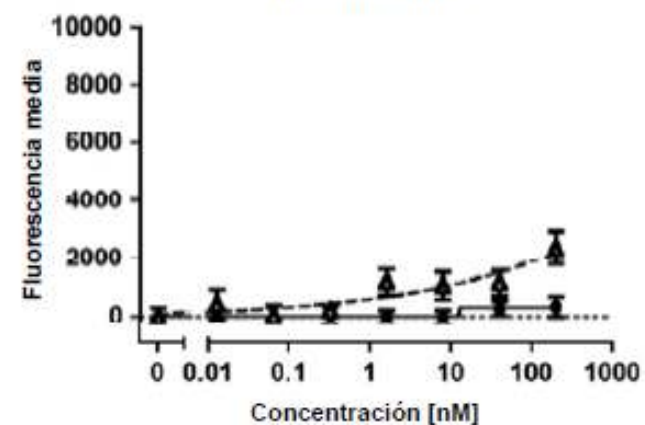
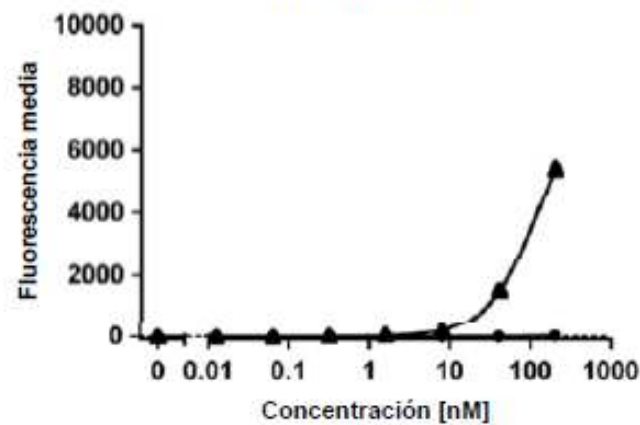
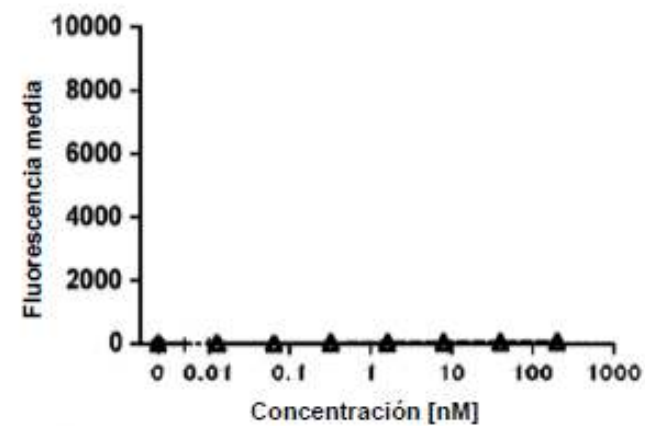
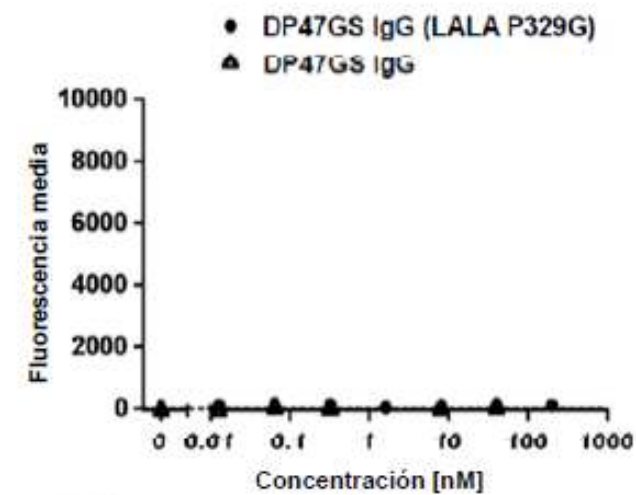
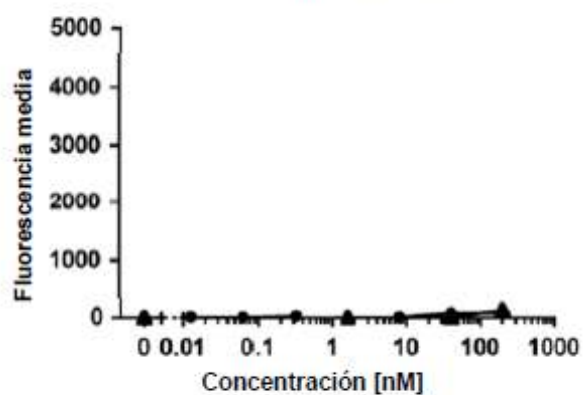
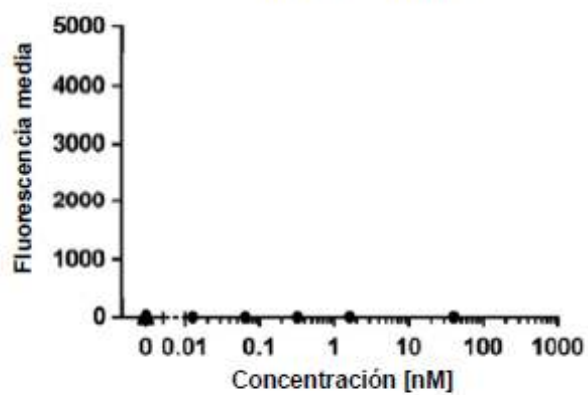
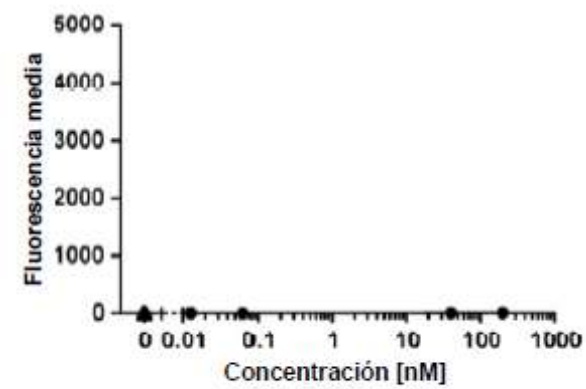
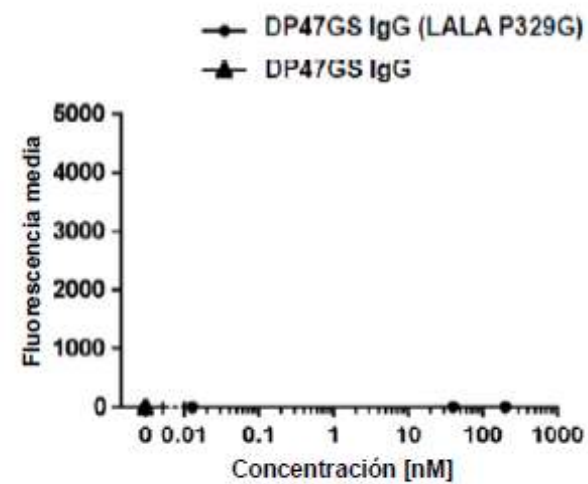


Figura 40A







LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Roche Glycart AG
 <120> Nuevos inmunoconjugados
 <130> 27444
 <150> PE 11164237.7
 <151> 2011-04-29
 <160> 300
 <170> PatentIn versión 3.5
 <210> 1
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 1

```

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

```

482862.TXT

Thr Ile Val¹⁰⁰ Glu Phe Leu Asn Arg¹⁰⁵ Trp Ile Thr Phe Ala¹¹⁰ Gln Ser Ile
 Ile Ser Thr¹¹⁵ Leu Thr
 130

<210> 3

<211> 133

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> IL-2 Cuádruple mutante humana (IL-2 qm)

<400> 3

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
 1 5 10 15
 Leu Leu Leu Asp²⁰ Leu Gln Met Ile²⁵ Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
 Asn Pro Lys³⁵ Leu Thr Arg Met⁴⁰ Leu Thr Ala Lys Phe Ala⁴⁵ Met Pro Lys
 Lys Ala Thr Glu Leu Lys His⁵⁵ Leu Gln Cys Leu⁶⁰ Glu Glu Leu Lys
 Pro Leu Glu Glu Val⁷⁰ Leu Asn Gly Ala Gln Ser⁷⁵ Lys Asn Phe His Leu⁸⁰
 Arg Pro Arg Asp⁸⁵ Leu Ile Ser Asn Ile⁹⁰ Asn Val Ile Val Leu Glu Leu⁹⁵
 Lys Gly Ser Glu¹⁰⁰ Thr Thr Phe Met Cys¹⁰⁵ Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala¹¹⁰
 Thr Ile Val¹¹⁵ Glu Phe Leu Asn Arg¹²⁰ Trp Ile Thr Phe Ala¹²⁵ Gln Ser Ile
 Ile Ser Thr Leu Thr
 130

<210> 4

<211> 518

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> IL-12 cadena única(p40-enlazante-p35)

<400> 4

Ile Trp Glu Leu Lys Lys Asp Val Tyr Val Val Glu Leu Asp Trp Tyr
 1 5 10 15
 Pro Asp Ala Pro Gly Glu Met Val Val Leu Thr Cys Asp Thr Pro Glu
 20 25 30
 Glu Asp Gly Ile Thr Trp Thr Leu Asp Gln Ser Ser Glu Val Leu Gly
 35 40 45
 Ser Gly Lys Thr Leu Thr Ile⁵⁵ Gln Val Lys Glu Phe⁶⁰ Gly Asp Ala Gly
 50 55 60
 Gln Tyr Thr Cys His Lys Gly Gly Glu Val Leu Ser His Ser Leu Leu⁸⁰
 65 70 75 80
 Leu Leu His Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp Ser Thr Asp Ile Leu Lys⁹⁵
 85 90 95
 Asp Gln Lys Glu¹⁰⁰ Pro Lys Asn Lys Thr Phe Leu Arg Cys Glu Ala Lys¹¹⁰
 100 105 110
 Asn Tyr Ser Gly Arg Phe Thr Cys Trp Trp Leu Thr Thr Ile Ser Thr¹²⁵
 115 120 125
 Asp Leu Thr Phe Ser Val Lys¹³⁵ Ser Ser Arg Gly Ser Asp Pro Gln¹⁴⁰
 130 135 140
 Gly Val Thr Cys Gly Ala Thr Leu Ser Ala Glu Arg Val Arg Gly¹⁶⁰
 145 150 155 160
 Asp Asn Lys Glu Tyr Glu Tyr Ser Val Glu Cys Gln Glu Asp Ser Ala¹⁷⁵
 165 170 175
 Cys Pro Ala Ala Glu Glu Ser Leu Pro Ile Glu Val Met Val Asp Ala¹⁹⁰
 180 185 190
 Val His Lys¹⁹⁵ Leu Lys Tyr Glu Asn²⁰⁰ Tyr Thr Ser Ser Phe²⁰⁵ Phe Ile Arg

482862.TXT

Asp Ile Ile Lys Pro Asp Pro Pro Lys Asn Leu Gln Leu Lys Pro Leu
 210 215 220
 Lys Asn Ser Arg Gln Val Glu Val Ser Trp Glu Tyr Pro Asp Thr Trp
 225 230 235 240
 Ser Thr Pro His Ser Tyr Phe Ser Leu Thr Phe Cys Val Gln Val Gln
 245 250 255
 Gly Lys Ser Lys Arg Glu Lys Lys Asp Arg Val Phe Thr Asp Lys Thr
 260 265 270
 Ser Ala Thr Val Ile Cys Arg Lys Asn Ala Ser Ile Ser Val Arg Ala
 275 280 285
 Gln Asp Arg Tyr Tyr Ser Ser Ser Trp Ser Glu Trp Ala Ser Val Pro
 290 295 300
 Cys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 305 310 315 320
 Ser Arg Asn Leu Pro Val Ala Thr Pro Asp Pro Gly Met Phe Pro Cys
 325 330 335
 Leu His His Ser Gln Asn Leu Leu Arg Ala Val Ser Asn Met Leu Gln
 340 345 350
 Lys Ala Arg Gln Thr Leu Glu Phe Tyr Pro Cys Thr Ser Glu Glu Ile
 355 360 365
 Asp His Glu Asp Ile Thr Lys Asp Lys Thr Ser Thr Val Glu Ala Cys
 370 375 380
 Leu Pro Leu Glu Leu Thr Lys Asn Glu Ser Cys Leu Asn Ser Arg Glu
 385 390 395 400
 Thr Ser Phe Ile Thr Asn Gly Ser Cys Leu Ala Ser Arg Lys Thr Ser
 405 410 415
 Phe Met Met Ala Leu Cys Leu Ser Ser Ile Tyr Glu Asp Leu Lys Met
 420 425 430
 Tyr Gln Val Glu Phe Lys Thr Met Asn Ala Lys Leu Leu Met Asp Pro
 435 440 445
 Lys Arg Gln Ile Phe Leu Asp Gln Asn Met Leu Ala Val Ile Asp Glu
 450 455 460
 Leu Met Gln Ala Leu Asn Phe Asn Ser Glu Thr Val Pro Gln Lys Ser
 465 470 475 480
 Ser Leu Glu Glu Pro Asp Phe Tyr Lys Thr Lys Ile Lys Leu Cys Ile
 485 490 495
 Leu Leu His Ala Phe Arg Ile Arg Ala Val Thr Ile Asp Arg Val Met
 500 505 510
 Ser Tyr Leu Asn Ala Ser
 515

<210> 5

<211> 340

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> IL-10 cadena única humana

<400> 5

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

482862.TXT

Asn Lys Leu Gln Glu Lys Gly Ile Tyr Lys Ala Met Ser Glu Phe Asp
 130 135 140
 Ile Phe Ile Asn Tyr Ile Glu Ala Tyr Met Thr Met Lys Ile Arg Asn
 145 150 155
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 165 170 175
 Gly Gly Gly Ser Ser Pro Gly Gln Gly Thr Gln Ser Glu Asn Ser Cys
 180 185 190
 Thr His Phe Pro Gly Asn Leu Pro Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp
 195 200 205
 Ala Phe Ser Arg Val Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp
 210 215 220
 Asn Leu Leu Leu Lys Glu Ser Leu Leu Glu Asp Phe Lys Gly Tyr Leu
 225 230 235 240
 Gly Cys Gln Ala Leu Ser Glu Met Ile Gln Phe Tyr Leu Glu Glu Val
 245 250 255
 Met Pro Gln Ala Glu Asn Gln Asp Pro Asp Ile Lys Ala His Val Asn
 260 265 270
 Ser Leu Gly Glu Asn Leu Lys Thr Leu Arg Leu Arg Leu Arg Arg Cys
 275 280 285
 His Arg Phe Leu Pro Cys Glu Asn Lys Ser Lys Ala Val Glu Gln Val
 290 295 300
 Lys Asn Ala Phe Asn Lys Leu Gln Glu Lys Gly Ile Tyr Lys Ala Met
 305 310 315 320
 Ser Glu Phe Asp Ile Phe Ile Asn Tyr Ile Glu Ala Tyr Met Thr Met
 325 330 335
 Lys Ile Arg Asn
 340

<210> 6

<211> 166

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> monómero de IL-10 humano (IL-10M1)

<400> 6

Ser Pro Gly Gln Gly Thr Gln Ser Glu Asn Ser Cys Thr His Phe Pro
 1 5 10
 Gly Asn Leu Pro Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp Ala Phe Ser Arg
 20 25 30
 Val Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Leu Leu Leu
 35 40 45
 Lys Glu Ser Leu Leu Glu Asp Phe Lys Gly Tyr Leu Gly Cys Gln Ala
 50 55 60
 Leu Ser Glu Met Ile Gln Phe Tyr Leu Glu Glu Val Met Pro Gln Ala
 65 70 75 80
 Glu Asn Gln Asp Pro Asp Ile Lys Ala His Val Asn Ser Leu Gly Glu
 85 90 95
 Asn Leu Lys Thr Leu Arg Leu Arg Leu Arg Arg Cys His Arg Phe Leu
 100 105 110
 Pro Cys Glu Asn Gly Gly Gly Ser Gly Gly Lys Ser Lys Ala Val Glu
 115 120 125
 Gln Val Lys Asn Ala Phe Asn Lys Leu Gln Glu Lys Gly Ile Tyr Lys
 130 135 140
 Ala Met Ser Glu Phe Asp Ile Phe Ile Asn Tyr Ile Glu Ala Tyr Met
 145 150 155 160
 Thr Met Lys Ile Arg Asn
 165

<210> 7

<211> 114

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> IL-15 mutante humano (E53A, N79A)

482862.TXT

<400> 7
 Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile
 1 5 10 15
 Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His
 20 25 30
 Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln
 35 40 45
 Val Ile Ser Leu Ala Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu
 50 55 60
 Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Ala Val
 65 70 75 80
 Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile
 85 90 95
 Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn
 100 105 110
 Thr Ser

<210> 8
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> secuencia líder
 <400> 8
 Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Ala His Ser

<210> 9
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> secuencia líder
 <400> 9
 atggactgga cctggagaat cctcttcttg gtggcagcag ccacaggagc ccactcc 57

<210> 10
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> secuencia líder
 <400> 10
 atggactgga cctggaggat cctcttcttg gtggcagcag ccacaggagc ccactcc 57

<210> 11
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> secuencia líder
 <400> 11
 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

<210> 12
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> secuencia líder
 <400> 12
 atggacatga ggggtccccgc tcagctcctg ggcttcctgc tgctctgggt cccagggtgcc 60

aggtgt

<210> 13

<211> 19

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia líder

<400> 13

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser

<210> 14

<211> 57

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia líder

<400> 14

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattcc 57

<210> 15

<211> 57

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia líder

<400> 15

atgggctggg cctgcatcat cctgtttctg gtggctaccg ccactggagt gcattcc 57

<210> 16

<211> 57

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia líder

<400> 16

atgggctggg cctgcatcat cctgtttctg gtcgccacag ccaccggcgt gcactct 57

<210> 17

<211> 466

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> proteína de fusión IL-2R-beta-Fc (ojal) humana

<400> 17

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15Phe Pro Gly Ala Arg Cys Ala Val Asn Gly Thr Ser Gln Phe Thr Cys
20 25 30Phe Tyr Asn Ser Arg Ala Asn Ile Ser Cys Val Trp Ser Gln Asp Gly
35 40 45Ala Leu Gln Asp Thr Ser Cys Gln Val His Ala Trp Pro Asp Arg Arg
50 55 60Arg Trp Asn Gln Thr Cys Glu Leu Leu Pro Val Ser Gln Ala Ser Trp
65 70 75 80Ala Cys Asn Leu Ile Leu Gly Ala Pro Asp Ser Gln Lys Leu Thr Thr
85 90 95Val Asp Ile Val Thr Leu Arg Val Leu Cys Arg Glu Gly Val Arg Trp
100 105 110Arg Val Met Ala Ile Gln Asp Phe Lys Pro Phe Glu Asn Leu Arg Leu
115 120 125Met Ala Pro Ile Ser Leu Gln Val Val His Val Glu Thr His Arg Cys
130 135 140Asn Ile Ser Trp Glu Ile Ser Gln Ala Ser His Tyr Phe Glu Arg His
145 150 155 160

482862.TXT

Leu Glu Phe Glu Ala Arg Thr Leu Ser Pro Gly His Thr Trp Glu Glu
 165 170 175
 Ala Pro Leu Leu Thr Leu Lys Gln Lys Gln Glu Trp Ile Cys Leu Glu
 180 185 190
 Thr Leu Thr Pro Asp Thr Gln Tyr Glu Phe Gln Val Arg Val Lys Pro
 195 200 205
 Leu Gln Gly Glu Phe Thr Thr Trp Ser Pro Trp Ser Gln Pro Leu Ala
 210 215 220
 Phe Arg Thr Lys Pro Ala Ala Leu Gly Lys Asp Thr Gly Ala Gln Asp
 225 230 235 240
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 245 250 255
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 260 265 270
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 275 280 285
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 290 295 300
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 305 310 315 320
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 325 330 335
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 340 345 350
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys
 355 360 365
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 370 375 380
 Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 385 390 395 400
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 405 410 415
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
 420 425 430
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 435 440 445
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 450 455 460

Gly Lys

465

<210> 18

<211> 1401

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> proteína de fusión IL-2R-beta-Fc (ojal) humana

<400> 18

atggacatga	gggtccccgc	tcagctcctg	ggcctcctgc	tgctctgggt	cccaggtgcc	60
aggtgtgcgg	tgaatggcac	ttcccagttc	acatgcttct	acaactcgag	agccaacatc	120
tcctgtgtct	ggagccaaga	tggggctctg	caggacactt	cctgccaaagt	ccatgcctgg	180
ccggacagac	ggcgggtggaa	ccaaacctgt	gagctgctcc	ccgtgagtca	agcatcctgg	240
gcctgcaacc	tgatcctcgg	agccccagat	tctcagaaac	tgaccacagt	tgacatcgtc	300
accctgaggg	tgctgtgccc	tgaggggggtg	cgatggaggg	tgatggccat	ccaggacttc	360
aagccctttg	agaaccttcg	cctgatggcc	cccatctccc	tccaagttgt	ccacgtggag	420
acccacagat	gcaacataag	ctgggaaatc	tcccaagcct	cccactactt	tgaaagacac	480
ctggagttcg	aggcccggac	gctgtcccca	ggccacacct	gggaggaggc	ccccctgctg	540
actctcaagc	agaagcagga	atggatctgc	ctggagacgc	tcaccccaga	cacccagtat	600
gagtttcagg	tgcggtgcaa	gcctctgcaa	ggcgagttca	cgacctggag	cccctggagc	660
cagcccctgg	ccttcagaac	aaagcctgca	gcccttgggg	aggacaccgg	agctcaggac	720
aaaactcaca	catgcccacc	gtgcccagca	cctgaactcc	tgggggggacc	gtcagtcctc	780
ctcttcccc	caaaacccaa	ggacaccctc	atgatctccc	ggacccctga	ggtcacatgc	840
gtggtggtgg	acgtgagcca	cgaagaccct	gagggtcaagt	tcaactggga	cgtggacggc	900
gtggaggtgc	ataatgccaa	gacaaagccg	cgggaggagc	agtacaacag	cacgtaccgt	960

482862.TXT

gtgggtcagcg	tcctcaccgt	cctgcaccag	gactggctga	atggcaagga	gtacaagtgc	1020
aaggtctcca	acaaagccct	cccagccccc	atcgagaaaa	ccatctccaa	agccaaaggg	1080
cagccccgag	aaccacaggt	gtgcaccctg	cccccatccc	gggatgagct	gaccaagaac	1140
caggtcagcc	tctcgtgctg	agtcaaaggc	ttctatccca	gcgacatcgc	cgtggagtgg	1200
gagagcaatg	ggcagccgga	gaacaactac	aagaccacgc	ctcccgtgct	ggactccgac	1260
ggctccttct	tcctcgtgag	caagctcacc	gtggacaaga	gcagggtggca	gcaggggaac	1320
gtctttctcat	gctccgtgat	gcatgaggct	ctgcacaacc	actacacgca	gaagagcctc	1380
tccctgtctc	cgggtaaata	a				1401

<210> 19

<211> 492

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> proteína de fusión IL-2R-gamma-Fc(botón) humana

<400> 19

Met	Leu	Lys	Pro	Ser	Leu	Pro	Phe	Thr	Ser	Leu	Leu	Phe	Leu	Gln	Leu
1				5					10					15	
Pro	Leu	Leu	Gly	Val	Gly	Leu	Asn	Thr	Thr	Ile	Leu	Thr	Pro	Asn	Gly
			20					25					30		
Asn	Glu	Asp	Thr	Thr	Ala	Asp	Phe	Phe	Leu	Thr	Thr	Met	Pro	Thr	Asp
		35					40					45			
Ser	Leu	Ser	Val	Ser	Thr	Leu	Pro	Leu	Pro	Glu	Val	Gln	Cys	Phe	Val
	50					55					60				
Phe	Asn	Val	Glu	Tyr	Met	Asn	Cys	Thr	Trp	Asn	Ser	Ser	Ser	Glu	Pro
65					70					75				80	
Gln	Pro	Thr	Asn	Leu	Thr	Leu	His	Tyr	Trp	Tyr	Lys	Asn	Ser	Asp	Asn
			85						90					95	
Asp	Lys	Val	Gln	Lys	Cys	Ser	His	Tyr	Leu	Phe	Ser	Glu	Glu	Ile	Thr
			100					105					110		
Ser	Gly	Cys	Gln	Leu	Gln	Lys	Lys	Glu	Ile	His	Leu	Tyr	Gln	Thr	Phe
		115					120					125			
Val	Val	Gln	Leu	Gln	Asp	Pro	Arg	Glu	Pro	Arg	Arg	Gln	Ala	Thr	Gln
	130					135					140				
Met	Leu	Lys	Leu	Gln	Asn	Leu	Val	Ile	Pro	Trp	Ala	Pro	Glu	Asn	Leu
145					150					155				160	
Thr	Leu	His	Lys	Leu	Ser	Glu	Ser	Gln	Leu	Glu	Leu	Asn	Trp	Asn	Asn
			165						170					175	
Arg	Phe	Leu	Asn	His	Cys	Leu	Glu	His	Leu	Val	Gln	Tyr	Arg	Thr	Asp
			180					185					190		
Trp	Asp	His	Ser	Trp	Thr	Glu	Gln	Ser	Val	Asp	Tyr	Arg	His	Lys	Phe
		195				200					205				
Ser	Leu	Pro	Ser	Val	Asp	Gly	Gln	Lys	Arg	Tyr	Thr	Phe	Arg	Val	Arg
	210				215						220				
Ser	Arg	Phe	Asn	Pro	Leu	Cys	Gly	Ser	Ala	Gln	His	Trp	Ser	Glu	Trp
225					230					235				240	
Ser	His	Pro	Ile	His	Trp	Gly	Ser	Asn	Thr	Ser	Lys	Glu	Asn	Pro	Phe
			245						250					255	
Leu	Phe	Ala	Leu	Glu	Ala	Gly	Ala	Gln	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro
		260						265					270		
Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe
		275					280					285			
Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val
		290				295					300				
Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe
305					310					315				320	
Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro
			325						330					335	
Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr
			340					345					350		
Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val
		355					360					365			
Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala
	370					375					380				

482862.TXT

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg
 385 390 400
 Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly
 405 410 415
 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 420 425 430
 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 435 440 445
 Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 450 455 460
 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 465 470 475 480
 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 485 490

<210> 20

<211> 1479

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> proteína de fusión IL-2R-gamma-Fc(botón) humana

<400> 20

atgttgaagc	catcattacc	attcacatcc	ctcttattcc	tgcagctgcc	cctgctggga	60
gtggggctga	acacgacaat	tctgacgccc	aatgggaatg	aagacaccac	agctgatttc	120
ttcctgacca	ctatgcccac	tgactccctc	agtgtttcca	ctctgcccct	cccagagggt	180
cagtgttttg	tgttcaatgt	cgagtacatg	aattgcactt	ggaacagcag	ctctgagccc	240
cagcctacca	acctcactct	gcattattgg	tacaagaact	cggataatga	taaagtccag	300
aagtgcagcc	actatctatt	ctctgaagaa	atcacttctg	gctgtcagtt	gcaaaaaaag	360
gagatccacc	tctaccaaac	atttgttggt	cagctccagg	acccacggga	acccaggaga	420
caggccacac	agatgctaaa	actgcagaat	ctggtgatcc	cctgggctcc	agagaacctt	480
acacttcaca	aactgagtga	atcccagcta	gaactgaact	ggaacaacag	attcttgaac	540
cactgttttg	agcacttggt	gcagtaccgg	actgactggg	accacagctg	gactgaacaa	600
tcagtggatt	atagacataa	gttctccttg	cttagtggtg	atgggcagaa	acgctacacg	660
tttcgtgttc	ggagccgctt	taaccacctc	tgtggaagtg	ctcagcattg	gagtgaatgg	720
agccacccaa	tccactgggg	gagcaatact	tcaaaagaga	atcctttcct	gtttgcattg	780
gaagccggag	ctcaggacaa	aactcacaca	tgcccaccgt	gcccagcacc	tgaactcctg	840
gggggaccgt	cagtcttcct	cttcccccca	aaacccaagg	acaccctcat	gatctcccgg	900
acccctgagg	tcacatgcgt	ggtggtggac	gtgagccacg	aagaccctga	ggtcaagttc	960
aactggtagc	tggacggcgt	ggagggtgat	aatgccaaga	caaagccgcg	ggaggagcag	1020
tacaacagca	cgtaccgtgt	ggtcagcgtc	ctcaccgtcc	tgaccagga	ctggctgaat	1080
ggcaaggagt	acaagtgcaa	ggtctccaac	aaagccctcc	cagcccccat	cgagaaaacc	1140
atctccaaag	ccaaagggca	gccccgagaa	ccacaggtgt	acaccctgcc	cccatgccgg	1200
gatgagctga	ccaagaacca	ggtcagcctg	tggtgccttg	tcaaaggctt	ctatcccagc	1260
gacatcgccg	tggagtggga	gagcaatggg	cagccggaga	acaactacaa	gaccacgcct	1320
cccgtgctgg	actccgacgg	ctccttcttc	ctctacagca	agctcaccgt	ggacaagagc	1380
aggtggcagc	aggggaacgt	cttctcatgc	tccgtgatgc	atgaggctct	gcacaaccac	1440
tacacgcaga	agagcctctc	cctgtctccg	ggtaaataga			1479

<210> 21

<211> 219

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> subunidad alfa de IL-2R humana + Avi-tag + His-tag

<400> 21

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

482862.TXT

Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro
 85 90 95
 Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln
 100 105 110
 Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro
 115 120 125
 Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln
 130 135 140
 Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly
 145 150 155 160
 Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr
 165 170 175
 Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Val Asp Glu Gln Leu Tyr Phe Gln
 180 185 190
 Gly Gly Ser Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp
 195 200 205
 His Glu Ala Arg Ala His His His His His His
 210 215

<210> 22

<211> 660

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> subunidad alfa IL-2R humana + Avi-tag + His-tag

<400> 22

atgggatgga	gctgtatcat	cctcttcttg	gtagcaacag	ctaccgggtgt	gcattccgag	60
ctctgtgacg	atgacccgcc	agagatccca	cacgccacat	tcaaagccat	ggcctacaag	120
gaaggaacca	tgttgaactg	tgaatgcaag	agaggtttcc	gcagaataaa	aagcgggtca	180
ctctatatgc	tctgtacagg	aaactctagc	cactcgtcct	gggacaacca	atgtcaatgc	240
acaagctctg	ccactcggaa	cacaacgaaa	caagtgcacac	ctcaacctga	agaacagaaa	300
gaaaggaaaa	ccacagaaat	gcaaagtcca	atgcagccag	tggaccaagc	gagccttcca	360
ggtcactgca	gggaacctcc	accatgggaa	aatgaagcca	cagagagaat	ttatcatttc	420
gtgggtggggc	agatgggttta	ttatcagtg	gtccagggat	acagggctct	acacagaggt	480
cctgctgaga	gcgtctgcaa	aatgaccac	gggaagacaa	ggtggacca	gccccagctc	540
atatgcacag	gtgtcgacga	acagttatat	tttcagggcg	gctcaggcct	gaacgacatc	600
ttcgaggccc	agaagatcga	gtggcacgag	gctcgagctc	accaccatca	ccatcactga	660

<210> 23

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10; VL

<400> 23

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

<210> 24

<211> 321

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10; VL

482862.TXT

<400> 24
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60
atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180
aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttactctca ccatcagcag cttgcagcct 240
gaagattttg ccacctatta ctgcttgag aatgggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300
ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 25
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 2B10(GS); VL
<400> 25

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

<210> 26
<211> 321
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 2B10(GS); VL
<400> 26

gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60
atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180
aggttcagcg gcagtgatc cgggacagag ttactctca ccatcagcag cttgcagcct 240
gaagattttg ccacctatta ctgcttgag aatgggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300
ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 27
<211> 121
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 2B10; VH
<400> 27

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

```

115                                120
<210> 28
<211> 363
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 2B10; VH
<400> 28
caggtgcaat tgggtgcagtc tgggggctgag gtgaagaagc ctggggtcctc ggtgaaggctc      60
tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc      120
cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac      180
gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac      240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac      300
ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc      360
tca
<210> 29
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 2F11; VL
<400> 29
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1      5      10      15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20      25      30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35      40      45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50      55      60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65      70      75      80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Tyr Thr Pro
85      90      95
Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100     105
<210> 30
<211> 324
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 2F11; VL
<400> 30
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc      60
ctctcttgca gggccagtc gagtgtagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa      120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcgtccca      180
gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag      240
cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagggtcagt atactcccc cacttcggc      300
caggggacca aagtggaaat caaa
<210> 31
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 2F11(VI); VL
<400> 31
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1      5      10      15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20      25      30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35      40      45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

```

482862.TXT

```

      50              55              60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65      70      75      80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Tyr Thr Pro
      85      90      95
Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
      100      105

<210> 32
<211> 324
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 2F11(VI); VL
<400> 32
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc      60
ctctcttgca gggccagtc gagtgtagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa      120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca      180
gacagggttc gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag      240
cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagggtcagt atactcccc cacgttcggc      300
caggggacca aagtggaaat caaa                                     324

<210> 33
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 2F11; VH
<400> 33
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1      5      10      15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
      20      25
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      30      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 Met Ala Val Tyr Tyr Cys
      85      90      95
Ala Lys Trp Arg Trp Met Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
      100      105      110
Val Thr Val Ser Ser
      115

<210> 34
<211> 351
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 2F11; VH
<400> 34
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct      120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac      180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac atggccgtat attactgtgc gaaatggaga      300
tggatgatgt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t                                     351

<210> 35
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 2F11(MT); VH
<400> 35

```

482862.TXT

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

<210> 36

<211> 351

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2F11(MT); VH

<400> 36

gaggtgcaat	tgttggagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	cacctttagc	agttatgcc	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccaggggaagg	ggctggagtg	ggtctcagct	attagtggta	gtgggtggtag	cacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	accgccgtat	attactgtgc	gaaatggaga	300
tggatgatgt	ttgactactg	gggccaagga	accctgggtca	ccgtctcgag	t	351

<210> 37

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 3F2; VL

<400> 37

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Tyr Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 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> 38

<211> 324

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 3F2; VL

<400> 38

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

<210> 39
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 3F2(YS); VL
 <400> 39
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 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> 40
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 3F2(YS); VL
 <400> 40

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

<210> 41
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 3F2; VH
 <400> 41

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 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> 42
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 3F2; VH

482862.TXT

```
<400> 42
gaggtgcaat tgttggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct      120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac      180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg      300
tttgggtggt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t      351
```

```
<210> 43
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 3D9, VL
<400> 43
```

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1      5      10      15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
      20      25      30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
      35      40      45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
      50      55      60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65      70      75      80
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> 44
<211> 324
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 3D9, VL
<400> 44
```

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

```
<210> 45
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 3D9, VH
<400> 45
```

```
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1      5      10      15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
      20      25      30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35      40      45
Ser Ala Ile Gly Val Ser Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
      50      55      60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65      70      75      80
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> 46
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 3D9, VH
 <400> 46
 gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccagact 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attggtgtta gtactggtag cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggttg 300
 ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351
 <210> 47
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 3D9(TA); VH
 <400> 47
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Gly Val Ser Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 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> 48
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 3D9(TA); VH
 <400> 48
 gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attggtgtta gtactggtag cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggttg 300
 ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351
 <210> 49
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 4G8; VL
 <400> 49
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45

482862.TXT

Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95
Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 50
<211> 324
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 4G8; VL
<400> 50

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcttgca gggccagtca gagggttagc cgcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatcatt ggggcctcca ccagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtg atccgggacg gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300
caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 51
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 4G8; VH
<400> 51

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
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> 52
<211> 351
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 4G8; VH
<400> 52

gaggtgcaat tgttgagtc tgggggagggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtgg 300
ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t 351

<210> 53
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 4B3; VL

482862.TXT

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

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

<220>
 <223> 4B3; VL
 <400> 54

gaaatcgtgt	taacgcagtc	tccaggcacc	ctgtctttgt	ctccagggga	aagagccacc	60
ctctcttgca	gggccagtc	gagtggttagc	agcaattact	tagcctggta	ccagcagaaa	120
cctggccagg	ctcccaggct	cctcatctat	ggcgccata	tcagggccac	tggcatccca	180
gacaggttca	gtggcagtg	atccgggaca	gacttcactc	tcaccatcag	cagactggag	240
cctgaagatt	ttgcagtgt	ttactgtcag	caggggtcagg	ttattccccc	tacgttcggc	300
caggggacca	aagtggaaat	caaa				324

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

<220>
 <223> 4B3; VH
 <400> 55

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

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

<220>
 <223> 4B3; VH
 <400> 56

gaggtgcaat	tgttgagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	caccttagc	agttatgcc	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccaggggaagg	ggctggagtg	ggtctcagct	attagtggta	gtgggtggtag	cacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaaggggtg	300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t

351

<210> 57

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 4D6; 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	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							

<210> 58

<211> 324

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 4D6; VL

<400> 58

gaaatcgtgt	taacgcagtc	tccaggcacc	ctgtctttgt	ctccagggga	aagagccacc	60
ctctcttgca	gggccagtca	gagtgttagc	agcaactact	tagcctggta	ccagcagaaa	120
cctggccagg	ctcccaggct	cctcatccag	ggcgcctcca	gcagggccac	tggcatccca	180
gacaggttca	gtggcagtgg	atccggggaca	gacttcactc	tcaccatcag	cagactggag	240
cctgaagatt	ttgcagtgtg	ttactgtcag	cagggtcagg	ttattccccc	tacgttcggc	300
caggggacca	aagtggaaat	caaa				324

<210> 59

<211> 117

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 4D6; VH

<400> 59

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> 60

<211> 351

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

482862.TXT

<223> 4D6; VH
 <400> 60
 gaggtgcaat tgttgaggatc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgccca tgagctgggt cccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactac 180
 gcagactccg tgaaggggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtgg 300
 ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t 351

<210> 61
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

<223> 2C6; VL
 <400> 61
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Gln Ile Pro
 85 90 95
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 62
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>

<223> 2C6; VL
 <400> 62
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcttgca gggccagtc gagtggttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180
 gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag caggctggag 240
 cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagggtcagc agattcccc tacgttcggc 300
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 63
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

<223> 2C6; VH
 <400> 63
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Ala Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 64

<211> 351

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2C6; VH

<400> 64

gaggtgcaat	tgttggagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatc	caccttttagc	agttatgcc	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccagggaagg	ggctggagtg	ggtctcagct	attagtggga	gtgctgggta	tacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaagggttg	300
tttgggaatt	ttgactactg	gggccaagga	accctgggtca	ccgtctcgag	t	351

<210> 65

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 5H5; VL

<400> 65

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

<210> 66

<211> 324

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 5H5; VL

<400> 66

gaaatcgtgt	taacgcagtc	tccaggcacc	ctgtctttgt	ctccagggga	aagagccacc	60
ctctcttgca	gggccagtc	gagtgtagc	agcagctact	tagcctggta	ccagcagaaa	120
cctggccagg	ctcccaggct	cctcatctat	ggagcatcca	gcagggccac	tggcatccca	180
gacagggtca	gtggcagtg	atccgggaca	gacttcactc	tcaccatcag	cagactggag	240
cctgaagatt	ttgcagtgt	ttactgtcag	cagggtaatc	agattccccc	tacgttcggt	300
caggggacca	aagtggaaat	caaa				324

<210> 67

<211> 116

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 5H5; VH

<400> 67

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

482862.TXT

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

<210> 68
 <211> 348
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 5H5; VH
 <400> 68

gaggtgcaat	tggttgagtc	tgggggagggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	caccttttagc	agttatacca	tgagctgggt	ccgccgggtct	120
ccagggaagg	ggctggagtg	ggtctcagct	attagtgggtg	gtggtaggac	atactacgca	180
gactccgtga	agggccggtt	caccatctcc	agagacaatt	ccaagaacac	gctgtatctg	240
cagatgaaca	gcctgagagc	cgaggacacg	gccgtatatatt	actgtgcgaa	agggttggttt	300
acgcctttttg	actactgggg	ccaaggaacc	ctggtcaccg	tctcgagt		348

<210> 69
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 2C4; VL
 <400> 69

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

<210> 70
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 2C4; VL
 <400> 70

gaaatcgtgt	taacgcagtc	tccaggcacc	ctgtctttgt	ctccagggga	aagagccacc	60
ctctcttgca	gggccagtc	gagtgttagc	agtaactact	tagcctggta	ccagcagaaa	120
cctggccagg	ctcccaggct	cctcatctat	ggtgcctcca	ttagggccac	tggtatccca	180
gacaggttca	gtggcagtg	atccgggaca	gacttcactc	tcaccatcag	cagactggag	240
cctgaagatt	ttgcagtgt	ttactgtcag	cagggtaatc	agattccccc	tacgttcggt	300
caggggacca	aagtggaaat	caaa				324

<210> 71
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 2C4; VH
 <400> 71

482862.TXT

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

<210> 72
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 2C4; VH
 <400> 72

gaggtgcaat	tggtggagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	cacctttagc	agttatgcc	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccaggggaagg	ggctggagtg	ggctctcagc	attagcggta	gtgggtggtag	cacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaagggttg	300
tttacgcctt	ttgactactg	gggccaagga	accctgggtca	ccgtctcgag	t	351

<210> 73
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 2D9; VL
 <400> 73

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

<210> 74
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 2D9; VL
 <400> 74

gaaatcgtgt	taacgcagtc	tccaggcacc	ctgtctttgt	ctccagggga	aagagccacc	60
ctctcttgca	gggccagtc	gagtggttagc	agcagctact	tagcctggta	ccagcagaaa	120
cctggccagg	ctcccaggct	cctcatctat	ggagcatcca	gcagggccac	tggcatccca	180
gacaggttca	gtggcagtg	atccgggaca	gacttcactc	tcaccatcag	cagactggag	240
cctgaagatt	ttgcagtgta	ttactgtcag	cagggtaatc	agattccccc	tacgttcggt	300
caggggacca	aagtggaaat	caaa				324

<210> 75
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 2D9; VH
 <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 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

<210> 76
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 2D9; VH
 <400> 76
 gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 ccctgtgcag cctccggatt cacccttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagcggta gtgggtggtag cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggttg 300
 ttacgcctt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t 351

<210> 77
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 4B8; VL
 <400> 77
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
 85 90 95
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 78
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 4B8; VL

482862.TXT

<400> 78
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcttgca gggccagtc gagtggttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag caggggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300
caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 79
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 4B8; VH

<400> 79
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 80
<211> 351
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 4B8; VH

<400> 80
gagggtgcaat tgttgaggatc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtgtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300
ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t 351

<210> 81
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 7A1; VL

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


```

100                                105
<210> 82
<211> 324
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 7A1; VL
<400> 82
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc      60
ctctcttgca gggccagtca gagggttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa      120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca      180
gacagggttca gtggcagtggt atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag      240
cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagc agattccccc tacgttcggc      300
caggggacca aagtggaaat caaa                                     324
<210> 83
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 7A1; VH
<400> 83
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1      5      10      15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
80
Ala Lys Gly Trp Phe Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100
Val Thr Val Ser Ser
115
<210> 84
<211> 351
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 7A1; VH
<400> 84
gagggtgcaat tgttggagtc tggggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcc a tgagctgggt ccgccaggct      120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactac      180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggttg      300
tttgggaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t                                     351
<210> 85
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 13C2; VL
<400> 85
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1      5      10      15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35

```

482862.TXT

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> 86
<211> 324
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 13C2; VL
<400> 86

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

<210> 87
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 13C2; VH
<400> 87

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

<210> 88
<211> 351
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 13C2; VH
<400> 88

gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggttg 300
ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t 351

<210> 89
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 13E8; VL

482862.TXT

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

<210> 90
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> 13E8; VL

<400> 90
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcttgca gggccagtc gagtgtagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180
 gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
 cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag caggggtctga atattccctc gacgttcggc 300
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

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

<220>
 <223> 13E8; VH

<400> 91
 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> 92
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> 13E8; VH

<400> 92
 gaggtgcaat tgttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagt ggtctcagct attagtggta gtgggtgtag cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggttg 300

ttgggtccgt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t

351

<210> 93

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 14C10; VL

<400> 93

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

<210> 94

<211> 324

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 14C10; VL

<400> 94

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcttgca gggccagtca gagggttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg atccggggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagggtcata ttattccccc gacgttcggc 300
caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 95

<211> 117

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 14C10; VH

<400> 95

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

<210> 96

<211> 351

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

482862.TXT

<223> 14C10; VH
 <400> 96
 gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactac 180
 gcagactccg tgaaggggccc gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccggtat attactgtgc gaaagcttgg 300
 atggggcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 97
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

<223> 17A11; VL
 <400> 97
 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> 98
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 17A11; VL
 <400> 98

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcttgca gggccagtc gagtggttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180
 gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
 cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagggtctga atattccctc gacgttcggc 300
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 99
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 17A11; VH
 <400> 99

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 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> 100

<211> 351

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 17A11; VH

<400> 100

gaggtgcaat	tgttggagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	caccttttagc	agttatgccca	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccagggaagg	ggctggagtg	ggtctcagct	attagtggta	gtgggtggtag	cacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaagggttg	300
ttgggtccgt	ttgactactg	gggccaagga	accctgggtca	ccgtctcgag	t	351

<210> 101

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 19G1; VL

<400> 101

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

<210> 102

<211> 324

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 19G1; VL

<400> 102

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

<210> 103

<211> 117

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 19G1; VH

<400> 103

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

482862.TXT

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> 104
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 19G1; VH
 <400> 104
 gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcga tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagcg attattagta gtgggtggtct cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg 300
 tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgtc c 351
 <210> 105
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 20G8; VL
 <400> 105
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
 85 90 95
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 106
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 20G8; VL
 <400> 106
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180
 gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
 cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagggtatta tgcttcccc gacgttcggc 300
 caggggacca aagtggaaat caaa 324
 <210> 107
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 20G8; VH
 <400> 107

482862.TXT

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

<210> 108

<211> 351

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 20G8; VH

<400> 108

gaggtgcaat	tgttggagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	cacctttagc	agttatgcaa	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccaggggaagg	ggctggagtg	ggtctcagct	attattggga	gtggtagtcg	tacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaaggggtg	300
tttggtggtt	ttaactactg	gggccaagga	accctgggtca	ccgtctcgtc	c	351

<210> 109

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 4B9; VL

<400> 109

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

<210> 110

<211> 324

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 4B9; VL

<400> 110

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


```

<210> 111
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 4B9; VH
<400> 111
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1      5      10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20     25     30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35     40     45
Ser Ala Ile 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> 112
<211> 351
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 4B9; VH
<400> 112
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctccggatt cacccttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct      120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggta gtgggtgctag cacatactac      180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg      300
tttggtgggt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgtc c              351

```

```

<210> 113
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 5B8; VL
<400> 113
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1      5      10
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20     25     30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35     40     45
Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50     55     60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65     70     75     80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85     90     95
Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100    105

```

```

<210> 114
<211> 324
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 5B8; VL

```

482862.TXT

<400> 114
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcttgca gggccagtc gagtggtacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagggtatta tgcttcccc gacgttcggc 300
caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 115
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 5B8; VH

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

<210> 116
<211> 351
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 5B8; VH

<400> 116
gagggtgcaat tggttgagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct atttggggtg gtggctcgtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300
tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 117
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 5F1; VL

<400> 117
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
<210> 118
<211> 324
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 5F1; VL
<400> 118
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc      60
ctctcttgca gggccagtc gagtggtacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa      120
cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca      180
gacagggttca gtggcagtggt atccggggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag      240
cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc      300
caggggacca aagtggaaat caaa                                     324
<210> 119
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 5F1; VH
<400> 119
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
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35
Ser Ala Ile Ile Ser Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85
Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100
Val Thr Val Ser Ser
115
<210> 120
<211> 351
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 5F1; VH
<400> 120
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct      120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattagta gtggggctag cacatactac      180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg      300
tttgggtggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgtc c                                     351
<210> 121
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 14B3; VL
<400> 121
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
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35

```

482862.TXT

Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
85 90 95
Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 122
<211> 324
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 14B3; VL
<400> 122

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

<210> 123
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 14B3; VH
<400> 123

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

<210> 124
<211> 351
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 14B3; VH
<400> 124

gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attttggcta gtggtgcat cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtgg 300
tttgggtggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 125
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 16F1; VL

482862.TXT

<400> 125
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
 85 90 95
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 126
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> 16F1; VL
 <400> 126

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

<210> 127
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> 16F1; VH
 <400> 127

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

<210> 128
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> 16F1; VH
 <400> 128

gaggtgcaat	tggtggagtc	tggggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	caccttagc	agttatgcta	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccaggggaagg	ggctggagtg	ggtctcaggt	attattggta	gtgggtggtat	cacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaaggggtg	300

tttgggtggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgtc c

<210> 129

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 16F8; VL

<400> 129

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

<210> 130

<211> 324

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 16F8; VL

<400> 130

gaaatcgtgt	taacgcagtc	tccaggcacc	ctgtctttgt	ctccagggga	aagagccacc	60
ctctcttgca	gggccagtca	gagtgttacc	agtagctact	tagcctggta	ccagcagaaa	120
cctggccagg	ctcccaggct	cctcatcaat	gtgggctccc	gtagggccac	tgcatccca	180
gacaggttca	gtggcagtgg	atccggggaca	gacttcactc	tcaccatcag	cagactggag	240
cctgaagatt	ttgcagtgtg	ttactgtcag	cagggtatta	tgcttcccc	gacgttcggc	300
caggggacca	aagtggaaat	caaa				324

<210> 131

<211> 117

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 16F8; VH

<400> 131

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												

<210> 132

<211> 351

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

482862.TXT

<223> 16F8; VH
 <400> 132
 gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attcttggtg gtggtggtag cacatactac 180
 gcagactccg tgaaggggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg 300
 tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 133
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

<223> 03C9; VL
 <400> 133
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Asn Val Gly Ser Arg Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ile Met Leu Pro
 85 90 95
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 134
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>

<223> 03C9; VL
 <400> 134
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcttgca gggccagtc gagtggtacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtggggtccc gtagggccac tggcatccca 180
 gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
 cctgaagatt ttgcagtgt tttactgtcag cagggtatta tgcttcccc gacgttcggc 300
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 135
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

<223> 03C9; VH
 <400> 135
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 136

<211> 351

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> O3C9; VH

<400> 136

gaggtgcaat	tgttggagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	caccttttagc	agttttgccca	tgagctgggt	ccgtcagtct	120
ccagggaagg	ggctggagtg	ggtctcagct	attattggta	gtggtagtaa	cacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaaggggtg	300
tttgggtggtt	ttaactactg	gggccaagga	accctgggtca	ccgtctcgtc	c	351

<210> 137

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> O2D7; VL

<400> 137

Glu	Ile	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Gly	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly
1			5					10						15	
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> 138

<211> 324

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> O2D7; VL

<400> 138

gaaatcgtgt	taacgcagtc	tccaggcacc	ctgtctttgt	ctccagggga	aagagccacc	60
ctctcttgta	gggccagtc	gagtggtacc	agtagctact	tagcctggta	ccagcagaaa	120
cctggccagg	ctcccaggct	cctcatcaat	gtgggctccc	gtagggccac	tggcacccca	180
gacaggttca	gtggcagtg	atccgggaca	gacttcactc	tcaccatcag	cagactggag	240
cctgaagatt	ttgcagtgt	ttactgtcag	caggctatta	tgcttcctcc	gacgttcggc	300
caggggacca	aagtggaaat	caaa				324

<210> 139

<211> 117

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> O2D7; VH

<400> 139

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

482862.TXT

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> 140
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> O2D7; VH
 <400> 140
 gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg 300
 tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgtc c 351
 <210> 141
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 28H1; VL
 <400> 141
 Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
 85 90 95
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 142
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 28H1; VL
 <400> 142
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc cgcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcatt ggggcctcca ccagggccac tggcatccca 180
 gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
 cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300
 caggggacca aagtggaaat caaa 324
 <210> 143
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 28H1; VH
 <400> 143

482862.TXT

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
 115

<210> 144

<211> 348

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 28H1; VH

<400> 144

gaggtgcaat	tgttggagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	cacctttagc	agtcattgcta	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccaggggaagg	ggctggagtg	ggctctcagct	atttgggcta	gtggggagca	atactacgca	180
gactccgtga	agggccgggt	caccatctcc	agagacaatt	ccaagaacac	gctgtatctg	240
cagatgaaca	gcctgagagc	cgaggacacg	gccgtatat	actgtgcgaa	aggggtggctg	300
ggtaattttg	actactgggg	ccaaggaacc	ctggtcaccg	tctcgagt		348

<210> 145

<211> 108

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 22A3; VL

<400> 145

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
 20 25 30
 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> 146

<211> 324

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 22A3; VL

<400> 146

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

```

<210> 147
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 22A3; VH
<400> 147
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1      5      10      15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20      25      30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
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

```

```

<210> 148
<211> 351
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 22A3; VH
<400> 148
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctccggatt cacccttagc agttatgccg tgagctgggt ccgccaggct      120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggta gtggtagtat cacatactac      180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg      300
tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t              351

```

```

<210> 149
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 29B11; VL
<400> 149
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1      5      10      15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Thr Ser Ser
20      25      30
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> 150
<211> 324
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 29B11; VL

```

482862.TXT

<400> 150
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcttgca gggccagtc gagtggtacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag caggggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300
caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 151
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 29B11; VH

<400> 151
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
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

<210> 152
<211> 351
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 29B11; VH

<400> 152
gaggtgcaat tggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctccggatt cacccttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattgcta gtggtggtat cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300
tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t 351

<210> 153
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 23C10; VL

<400> 153
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Ile Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Val Ile Pro
85 90 95
Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 154
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 23C10; VL
 <400> 154

gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcttgca gggccagtca gagtgtagc cgcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatcatt ggggcctcca ccagggccac tggcatccca 180
 gacagggttca gtggcagtggt atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
 cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 155
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 23C10; VH
 <400> 155

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

<210> 156
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 23C10; VH
 <400> 156

gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttctgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtacta atggtaatta tacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg 300
 ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag t 351

<210> 157
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 2B10_C3B6; VL
 <400> 157

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

482862.TXT

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 158

<211> 321

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10_C3B6; VL

<400> 158

gatatccaga	tgacccagtc	tccatcctcc	ctgtctgcat	ctgtcggaga	ccgggtcacc	60
atcacctgcc	gggcaagtca	gggcattaga	aatgatttag	gctggtacca	gcagaagcca	120
gggaaagccc	ctaagcgcct	gatctatgct	gcatccagtt	tgcagagtgg	cgccccatca	180
aggttcagcg	gcagtggatc	cgggacagag	ttcactctca	ccatcagcag	cttgagcct	240
gaagattitg	ccacctatta	ctgcttgcat	aatggtctgc	agccccgcgac	gtttggccag	300
ggcaccaaag	tcgagatcaa	g				321

<210> 159

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10_C3B6; VH

<400> 159

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

<210> 160

<211> 363

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10_C3B6; VH

<400> 160

caggtgcaat	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggct	60
tcctgcaagg	cctccggagg	cacattcagc	agctacgcta	taagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggctcgagtg	gatgggagct	atcatcccga	tccttggtat	cgcaaaactac	180
gcacagaagt	tccagggcag	ggtcaccatt	actgcagaca	aatccacgag	cacagcctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	accgccgtgt	attactgtgc	gagactgtac	300
ggttacgctt	actacgggtgc	ttttgactac	tggggccaag	ggaccaccgt	gaccgtctcc	360
tca						363

<210> 161

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

482862.TXT

<223> 2B10_6A12; VL

<400> 161

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

<210> 162

<211> 321

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10_6A12; VL

<400> 162

gatatccaga	tgacccagtc	tccatcctcc	ctgtctgcat	ctgtcggaga	ccgggtcacc	60
atcacctgcc	gggcaagtca	gggcattaga	aatgatttag	gctggtacca	gcagaagcca	120
gggaaagccc	ctaagcgcct	gatctatgct	gcatccagtt	tgcagagtgg	cgccccatca	180
aggttcagcg	gcagtggatc	cgggacagag	ttcactctca	ccatcagcag	cttgcagcct	240
gaagattttg	ccacctatta	ctgcttgtag	aatgggtctgc	agcccgcgac	gtttggccag	300
ggcaccaaag	tcgagatcaa	g				321

<210> 163

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10_6A12; VH

<400> 163

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

<210> 164

<211> 363

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10_6A12; VH

<400> 164

caggtgcaat	tgggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcctgcaagg	cctccggagg	cacattcagc	agctatgcta	taagctgggt	gcgacaggcc	120
ccctggacaag	ggctcgagtg	gatgggagtg	atcatcccta	tccttgggtac	cgcaaactac	180
gcacagaagt	tccagggcag	ggtcaccatt	actgcagaca	aatccacgag	cacagcctac	240

482862.TXT

```

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300
ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360
tca 363
<210> 165
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 2B10_C3A6; VL
<400> 165
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Val
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ser Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105
<210> 166
<211> 321
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 2B10_C3A6; VL
<400> 166
gacatccaga tgacccagtc tccttcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60
atcacctgcc gggcaagtca gggcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat tctgccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180
aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240
gaagattttg ccacctatta ctgcttgcat aatgggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300
ggcaccaaag tcgagatcaa g 321
<210> 167
<211> 121
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 2B10_C3A6; VH
<400> 167
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 168
<211> 363
<212> DNA

```


<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10_C3A6; VH

<400> 168

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

<210> 169

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10_D1A2_wt; VL

<400> 169

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

<210> 170

<211> 321

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10_D1A2_wt; VL

<400> 170

gatatccaga	tgacccagtc	tccatcctcc	ctgtctgcat	ctgtcggaga	ccgggtcacc	60
atcacctgcc	gggcaagtca	ggggattcgt	aatgttttag	gctggtacca	gcagaagcca	120
gggaaagccc	ctaagcgctt	gatctatgat	gcttacagct	tgcagagtgg	cggtcccatca	180
aggttcagcg	gcggtggatc	cgggacagag	ttcactctca	ccatcagcag	cttgcacgct	240
gaagattttg	ccacctatta	ctgcttgcat	aatggtctgc	agcccgcgac	gtttggccag	300
ggcaccaaag	tcgagatcaa	g				321

<210> 171

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10_D1A2_wt; VH

<400> 171

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

482862.TXT

85 90 95
 Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 172
 <211> 363
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 2B10_D1A2_wt; VH
 <400> 172
 caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60
 tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttgggtac agcaaaactac 180
 gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300
 gggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360
 tca 363
 <210> 173
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 2B10_D1A2_VD; VL
 <400> 173
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
 20 25 30
 Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asp Ala Tyr Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 174
 <211> 321
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 2B10_D1A2_VD; VL
 <400> 174
 gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60
 atcacctgcc gggcaagtca ggggattcgt aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120
 gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gcttacagct tgcagagtgg cgtcccatca 180
 aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240
 gaagattttg ccacctatta ctgcttgcat aatgggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300
 ggcaccaaag tcgagatcaa g 321
 <210> 175
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 2B10_D1A2_VD; VH
 <400> 175
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

482862.TXT

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

<210> 176

<211> 363

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10_D1A2_VD; VH

<400> 176

cagggtgcaat tgggtgcagtc tgggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggctc
 tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc
 cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaaactac
 gcacagaagt tccaggggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac
 ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc
 tca

60

120

180

240

300

360

363

<210> 177

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10_O7D8; VL

<400> 177

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

<210> 178

<211> 321

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10_O7D8; VL

<400> 178

gatattccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc
 atcacctgcc gggcaagtca gagcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca
 gggaaagccc ctaagcgctt gatctatgat gtgtccagtt tgcagagtgg cgtcccatca
 aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct
 gaagattttg ccacctatta ctgcttgcat aatgggtctgc agcccgcgac gtttggccag
 ggcaccaaag tcgagatcaa g

60

120

180

240

300

321

<210> 179

<211> 121

```

<212>  PRT
<213>  Secuencia artificial
<220>
<223>  2B10_07D8; VH
<400>  179
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1      5      10      15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20      25      30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35      40      45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50      55      60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65      70      75      80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85      90      95
Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100     105     110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115     120
<210>  180
<211>  363
<212>  DNA
<213>  Secuencia artificial
<220>
<223>  2B10_07D8; VH
<400>  180
cagggtgcaat tgggtgcagtc tgggggctgag gtgaagaagc ctggggtcctc ggtgaaggctc      60
tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc      120
cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac      180
gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac      240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac      300
ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc      360
tca
<210>  181
<211>  107
<212>  PRT
<213>  Secuencia artificial
<220>
<223>  2B10_01F7; VL
<400>  181
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1      5      10      15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Val
20      25      30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35      40      45
Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50      55      60
Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65      70      75      80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85      90      95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100     105
<210>  182
<211>  321
<212>  DNA
<213>  Secuencia artificial
<220>
<223>  2B10_01F7; VL
<400>  182

```

482862.TXT

gatatccaga	tgacccagtc	tccatcctcc	ctgtctgcat	ctgtcggaga	ccgggtcacc	60
atcacctgcc	gggcaagtca	gggcattcgt	aatgttttag	gctggtacca	gcagaagcca	120
gggaaagccc	ctaagcgcc	gatctatgat	gcgtccagtt	tgcagagtgg	cgccccatca	180
agggttcagcg	gcggtggatc	cgggacagag	ttcactctca	ccatcagcag	cttgcagcct	240
gaagattttg	ccacctatta	ctgcctgcag	aatgggtctgc	agcccgcgac	gtttggccag	300
ggcaccaaag	tcgagatcaa	g				321

<210> 183
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 2B10_01F7; VH
 <400> 183

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

<210> 184
 <211> 363
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 2B10_01F7; VH
 <400> 184

caggtgcaat	tgggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcttgcagg	cctccggagg	cacattcagc	agctacgcta	taagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggctcgagtg	gatgggagg	atcatcccta	tctttgggtac	agcaaaactac	180
gcacagaagt	tccagggcag	ggtcaccatt	actgcagaca	aatccacgag	cacagcctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	accgccgtgt	attactgtgc	gagactgtac	300
ggttacgctt	actacgggtgc	ttttgactac	tggggccaag	ggaccaccgt	gaccgtctcc	360
tca						363

<210> 185
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 2B10_6H10; VL
 <400> 185

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

```

100
<210> 186
<211> 321
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 2B10_6H10; VL
<400> 186
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc      60
atcacctgcc gggcaagtca gggcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca      120
gggaaagccc ctaagcgcct gatccaggct gctaccagtt tgcagagtgg cgtcccatca      180
aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct      240
gaagattttg ccacctatta ctgcttgcat aatgggtctgc agccccgcgac gtttggccag      300
ggcaccaaag tcgagatcaa g
<210> 187
<211> 121
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 2B10_6H10; VH
<400> 187
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1      5      10      15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20      25      30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35      40      45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50      55      60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65      70      75      80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85      90      95
Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100     105     110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115     120
<210> 188
<211> 363
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 2B10_6H10; VH
<400> 188
cagggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc      60
tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc      120
cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac      180
gcacagaagt tccaggggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac      240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac      300
gggtacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc      360
tca
<210> 189
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> CH1A1A; VL
<400> 189
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

```

482862.TXT

35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu
 85 90 95
 Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 190

<211> 324

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> CH1A1A; VL

<400> 190

gatatccaga	tgacccagtc	tccatcctcc	ctgtctgcat	ctgtgggaga	cagagtcacc	60
atcacttgca	agggcagtc	ggctgtgggt	acgtatgttg	cggtggatatca	gcagaaacca	120
gggaaagcac	ctaagctcct	gatctattcg	gcacccctacc	gcaaaagggg	agtcccatca	180
aggttcagtg	gcagtgatc	tgggacagat	ttcactctca	ccatcagcag	tctgcaacct	240
gaagatttcg	caacttacta	ctgtcaccaa	tattacacct	atcctctatt	cacgtttggc	300
cagggcacca	agctcgagat	caag				324

<210> 191

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> CH1A1A; VH

<400> 191

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

<210> 192

<211> 363

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> CH1A1A; VH

<400> 192

cagggtgcagc	tggtgcagtc	tggcgccgaa	gtgaagaaac	ctggagctag	tgtgaagggtg	60
tcctgcaagg	ccagcggcta	caccttcacc	gagttcggca	tgaactgggt	ccgacaggct	120
ccaggccagg	gcctcgaatg	gatgggctgg	atcaacacca	agaccggcga	ggccacctac	180
gtggaagagt	tcaagggcag	agtgccttc	accacggaca	ccagcaccag	caccgcctac	240
atggaactgc	ggagcctgag	aagcgacgac	accgccgtgt	actactgcgc	cagatgggac	300
ttcgctatt	acgtggaagc	catggactac	tggggccagg	gcaccaccgt	gaccgtgtct	360
agc						363

<210> 193

<211> 446

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 28H1 Fab HC-Fc ojal (LALA P329G)

<400> 193

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 115 120 125
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 130 135 140
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
 180 185 190
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
 195 200 205
 Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 194

<211> 1338

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 28H1 Fab HC-Fc ojal (LALA P329G)

<400> 194

gaagtgcagc	tgctggaatc	cggcggaggc	ctgggtgcagc	ctggcggatc	tctgagactg	60
tcctgcgccg	cctccggctt	caccttctcc	tcccacgcca	tgctcctgggt	ccgacaggct	120
cctggcaaaag	gcctggaatg	ggtgtccgcc	atctgggcct	ccggcggagca	gtactacgcc	180
gactctgtga	agggccgggt	caccatctcc	cgggacaact	ccaagaacac	cctgtacctg	240
cagatgaact	ccctgcgggc	cgaggacacc	gccgtgtact	actgtgcca	gggctggctg	300
ggcaacttcg	actactgggg	acagggcacc	ctggtcaccg	tgtccagcgc	tagcaccaag	360
ggccccctccg	tggtccccct	ggccccccagc	agcaagagca	ccagcggcgg	cacagccgct	420
ctgggctgcc	tggtcaagga	ctacttcccc	gagcccgtga	ccgtgtcctg	gaacagcgga	480
gccctgacct	ccggcggtgca	caccttcccc	gccgtgctgc	agagttcttg	cctgtatagc	540
ctgagcagcg	tggtcaccgt	gccttctagc	agcctgggca	cccagacct	catctgcaac	600
gtgaaccaca	agcccagcaa	caccaagggt	gacaagaagg	tggagcccaa	gagctgcgac	660
aaaactcaca	catgcccacc	gtgcccagca	cctgaagctg	caggggggacc	gtcagtcctc	720
ctcttcccccc	caaaacccaa	ggacaccctc	atgatctccc	ggacccctga	ggtcacatgc	780
gtggtggtgg	acgtgagcca	cgaagaccct	gaggtcaagt	tcaactggta	cgtggacggc	840
gtggagggtgc	ataatgccaa	gacaaagccg	cgggaggagc	agtacaacag	cacgtaccgt	900
gtggtcagcg	tcctcaccgt	cctgcaccag	gactggctga	atggcaagga	gtacaagtgc	960
aaggtctcca	acaaagccct	cggcgcccc	atcgagaaaa	ccatctccaa	agccaaaggg	1020
cagccccgag	aaccacaggt	gtgcaccctg	cccccatccc	gggatgagct	gaccaagaac	1080
caggtcagcc	tctcgtgcgc	agtcaaaggc	ttctatccca	gcgacatcgc	cgtggagtgg	1140
gagagcaatg	ggcagccgga	gaacaactac	aagaccacgc	ctcccgtgct	ggactccgac	1200
ggctccttct	tcctcgtgag	caagctcacc	gtggacaaga	gcaggtggca	gcaggggaac	1260
gtcttctcat	gctccgtgat	gcatgaggct	ctgcacaacc	actacacgca	gaagagcctc	1320
tcctgtctc	cgggtaaa					1338

<210> 195

<211> 592

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 28H1 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm

<400> 195

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
			20				25					30		His
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp
			35				40					45		Val
Ser	Ala	Ile	Trp	Ala	Ser	Gly	Glu	Gln	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
Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95
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
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser
				165					170					175
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Leu
			180					185					190	
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

482862.TXT

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 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
 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> 196

<211> 1776

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 28H1 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm

<400> 196

gaagtgcagc	tgctggaatc	cggcggaggc	ctggtgcagc	ctggcggatc	tctgagactg	60
tcctgcgccg	cctccggctt	caccttctcc	tcccacgcca	tgtcctgggt	ccgacaggct	120
cctggcaaaag	gcctggaatg	ggtgtccgcc	atctgggcct	ccggcggagca	gtactacgcc	180
gactctgtga	agggccggtt	caccatctcc	cgggacaact	ccaagaacac	cctgtacctg	240
cagatgaact	ccctgcgggc	cgaggacacc	gccgtgtact	actgtgcca	gggctggctg	300
ggcaacttcg	actactgggg	acagggcacc	ctggtcaccg	tgtccagcgc	tagcaccaag	360
ggcccatcgg	tcttccccct	ggcacctcc	tccaagagca	cctctggggg	cacagcggcc	420
ctgggctgcc	tgggtcaagga	ctacttcccc	gaaccgggtga	cggtgtcgtg	gaactcaggc	480
gccctgacca	gcggcggtga	caccttcccc	gctgtcctac	agtcctcagg	actctactcc	540
ctcagcagcg	tgggtgaccgt	gccctccagc	agcttggggc	cccagaccta	catctgcaac	600
gtgaatcaca	agcccagcaa	caccaagggtg	gacaagaaag	ttgagcccaa	atcttgtgac	660
aaaactcaca	catgcccacc	gtgcccagca	cctgaagctg	caggggggacc	gtcagtcctt	720

482862.TXT

ctcttccccc	caaaacccaa	ggacaccctc	atgatctccc	ggaccctga	ggtcacatgc	780
gtggtggtgg	acgtgagcca	cgaagaccct	gaggtcaagt	tcaactggta	cgtggacggc	840
gtggagggtgc	ataatgccaa	gacaaagccg	cgggaggagc	agtacaacag	cacgtaccgt	900
gtggtcagcg	tcctcaccgt	cctgcaccag	gactggctga	atggcaagga	gtacaagtgc	960
aaggtctcca	acaaagccct	cggcgccccc	atcgagaaaa	ccatctccaa	agccaaaggg	1020
cagccccgag	aaccacaggt	gtacaccctg	cccccatgcc	gggatgagct	gaccaagaac	1080
caggtcagcc	tgtggtgcct	ggtcaaaggc	ttctatccca	gcgacatcgc	cgtggagtgg	1140
gagagcaatg	ggcagccgga	gaacaactac	aagaccacgc	ctcccgtgct	ggactccgac	1200
ggctccttct	tcctctacag	caagctcacc	gtggacaaga	gcaggtggca	gcaggggaac	1260
gtcttctcat	gctccgtgat	gcatgaggct	ctgcacaacc	actacacgca	gaagagcctc	1320
tccctgtctc	cgggtggcgg	cggaggctcc	ggaggcggag	gttctggcgg	aggtggcgct	1380
cctgcctcct	ccagcaccaa	gaaaacccag	ctccagctgg	aacatctcct	gctggatctg	1440
cagatgatcc	tgaacggcat	caacaactac	aagaacccca	agctgaccgc	gatgctgacc	1500
gccaaagtgc	ccatgcccaa	gaaggccacc	gagctgaaac	atctgcagtg	cctggaagag	1560
gaactgaagc	ctctggaaga	ggtgctgaac	ggcgcccagt	ccaagaactt	ccacctgagg	1620
cctcgggacc	tgatctccaa	catcaacgtg	atcgtgctgg	aactgaaggg	ctccgagaca	1680
accttcatgt	gcgagtacgc	cgacgagaca	gctaccatcg	tggaatttct	gaaccggtgg	1740
atcaccttcg	cccagtccat	catctccacc	ctgacc			1776

<210> 197

<211> 592

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 28H1 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 wt

<400> 197

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	
1			5					10						15		
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	His	
			20					25					30			
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
		35					40					45				
Ser	Ala	Ile	Trp	Ala	Ser	Gly	Glu	Gln	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	
	50					55					60					
Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr	Leu	
65					70			75						80		
Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	
			85					90					95			
Lys	Gly	Trp	Leu	Gly	Asn	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	
			100					105					110			
Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	
		115					120					125				
Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	
		130				135					140					
Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	
145					150				155						160	
Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	
			165					170						175		
Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	
			180					185					190			
Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	
		195					200					205				
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					

482862.TXT

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 Thr 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 Phe Lys Phe Tyr 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 Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
 530 535 540
 Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
 545 550 555 560
 Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
 565 570 575
 Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
 580 585 590

<210> 198

<211> 1776

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 28H1 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 wt

<400> 198

gaagtgcagc	tgctggaatc	cggcggaggc	ctggtgcagc	ctggcggatc	tctgagactg	60
tcctgcgccg	cctccggctt	caccttctcc	tcccacgccca	tgtcctgggt	ccgacaggct	120
cctggcaaag	gcctggaatg	ggtgtccgcc	atctgggcct	ccggcgagca	gtactacgcc	180
gactctgtga	agggccgggt	caccatctcc	cgggacaact	ccaagaacac	cctgtacctg	240
cagatgaact	ccctgcgggc	cgaggacacc	gccgtgtact	actgtgccaa	gggctggctg	300
ggcaacttcg	actactgggg	acagggcacc	ctggtcaccg	tgtccagcgc	tagcaccaag	360
ggcccatcgg	tcttccccct	ggcaccctcc	tccaagagca	cctctggggg	cacagcggcc	420
ctgggctgcc	tgggtcaagga	ctacttcccc	gaaccgggtga	cggtgtcgtg	gaactcaggc	480
gccctgacca	gcggcgtgca	caccttcccc	gctgtcctac	agtcctcagg	actctactcc	540
ctcagcagcg	tgggtgaccgt	gccctccagc	agcttgggca	cccagacctc	catctgcaac	600
gtgaatcaca	agcccagcaa	caccaagggtg	gacaagaaaag	ttgagcccaa	atcttgtgac	660
aaaactcaca	catgcccacc	gtgcccagca	cctgaagctg	caggggggacc	gtcagtcttc	720
ctcttcccc	caaaacccaa	ggacaccctc	atgatctccc	ggacccctga	ggtcacatgc	780
gtgggtgggtg	acgtgagcca	cgaagaccct	gagggtcaagt	tcaactggta	cgtggacggc	840
gtggagggtgc	ataatgccaa	gacaaagccg	cgggaggagc	agtacaacag	cacgtaccgt	900
gtggtcagcg	tcctcaccgt	cctgcaccag	gactggctga	atggcaagga	gtacaagtgc	960
aaggtctcca	acaaagccct	cggcgccccc	atcgagaaaa	ccatctccaa	agccaaaggg	1020
cagccccgag	aaccacaggt	gtacaccctg	cccccatgcc	gggatgagct	gaccaagaac	1080
caggtcagcc	tgtggtgcct	ggtcaaaaggc	ttctatccca	gcgacatcgc	cgtggagtgg	1140
gagagcaatg	ggcagccgga	gaacaactac	aagaccacgc	ctcccgtgct	ggactccgac	1200

482862.TXT

```

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcagggtggca gcaggggaac 1260
gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1320
tccctgtctc cgggtggcgg cggaggctcc ggaggcggag gttctggcgg aggtggcgct 1380
cctacatcct ccagcaccaa gaaaacccag ctccagctgg aacatctcct gctggatctg 1440
cagatgatcc tgaacggcat caacaactac aagaacccca agctgacccg gatgctgacc 1500
ttcaagtctt acatgccccaa gaaggccacc gagctgaaac atctgcagtg cctggaagag 1560
gaactgaagc ctctggaaga ggtgctgaac ctggccagat ccaagaactt ccacctgagg 1620
cctcgggacc tgatctccaa catcaacgtg atcgtgctgg aactgaaggg ctccgagaca 1680
accttcattgt gcgagtacgc cgacgagaca gctaccatcg tggaatttct gaaccggtgg 1740
atcaccttcg cccagttccat catctccacc ctgacc 1776

```

<210> 199

<211> 574

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 28H1 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-15 (E53A N79A)

<400> 199

```

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

```

482862.TXT

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 Ser Gly Gly
 435 440 445
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asn Trp Val Asn
 450 455 460
 Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln Ser Met His
 465 470 475 480
 Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro Ser Cys Lys
 485 490 495
 Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu
 500 505 510
 Ala Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile
 515 520 525
 Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Ala Val Thr Glu Ser Gly
 530 535 540
 Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu
 545 550 555 560
 Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser
 565 570

<210> 200

<211> 1722

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 28H1 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-15 (E53A N79A)

<400> 200

gaagtgcagc	tgctggaatc	cggcggaggc	ctggtgcagc	ctggcggatc	tctgagactg	60
tcctgcgccg	cctccggctt	caccttctcc	tcccacgcca	tgtcctgggt	ccgacaggct	120
cctggcaaaag	gcctggaatg	ggtgtccgcc	atctgggcct	ccggcgcagca	gtactacgcc	180
gactctgtga	agggccggtt	caccatctcc	cgggacaact	ccaagaacac	cctgtacctg	240
catgatgaact	ccctgcgggc	cgaggacacc	gccgtgtact	actgtgccaa	gggctggctg	300
ggcaacttcg	actactgggg	acagggcacc	ctgggtcaccg	tgtccagcgc	tagcaccaag	360
ggcccatcgg	tcttccccct	ggcacccctc	tccaagagca	cctctggggg	cacagcggcc	420
ctgggctgcc	tggtcaagga	ctacttcccc	gaaccgggtga	cggtgtcgtg	gaactcaggc	480
gccctgacca	gcggcggtgca	caccttccccg	gctgtcctac	agtcctcagg	actctactcc	540
ctcagcagcg	tggtgaccgt	gccctccagc	agcttgggca	cccagaccta	catctgcaac	600
gtgaatcaca	agcccagcaa	caccaagggtg	gacaagaaaag	ttgagcccaa	atcttgtgac	660
aaaactcaca	catgcccacc	gtgcccagca	cctgaagctg	caggggggacc	gtcagtcctt	720
ctcttcccc	caaaacccaa	ggacaccctc	atgatctccc	ggacccctga	ggtcacatgc	780
gtggtggtgg	acgtgagcca	cgaagaccct	gagggtcaagt	tcaactggta	cgtggacggc	840
gtggagggtgc	ataatgccaa	gacaaagccg	cgggaggagc	agtacaacag	cacgtaccgt	900
gtggtcagcg	tcctcaccgt	cctgcaccag	gactggctga	atggcaagga	gtacaagtgc	960
aagggtctcca	acaaagccct	cggcgcccc	atcgagaaaa	ccatctccaa	agccaaaggg	1020
cagccccgag	aaccacaggt	gtacaccctg	cccccatgcc	gggatgagct	gaccaagaac	1080
caggtcagcc	tgtggtgcct	ggtcaaaggc	ttctatccca	gcgacatcgc	cgtggagtgg	1140
gagagcaatg	ggcagccgga	gaacaactac	aagaccacgc	ctcccgtgct	ggactccgac	1200
ggctccttct	tcctctacag	caagctcacc	gtggacaaga	gcaggtggca	gcaggggaac	1260
gtcttctcat	gctccgtgat	gcatgaggct	ctgcacaacc	actacacgca	gaagagcctc	1320
tccctgtctc	cgggttccgg	cggcgagggc	tccggaggcg	gagggttctgg	cggagggtggc	1380
aactgggtga	atgtaataag	tgatttgaaa	aaaattgaag	atcttattca	atctatgcat	1440
attgatgcta	ctttatatac	ggaaagtgat	gttcacccca	gttgcaaagt	aacagcaatg	1500
aagtgtttc	tcttgagatt	acaagttatt	tcacttgcgt	ccggagatgc	aagtattcat	1560
gatacagtag	aaaatctgat	catcctagca	aacaacagtt	tgtcttctaa	tggggctgta	1620
acagaatctg	gatgcaaaga	atgtgaggaa	ctggaggaaa	aaaatattaa	agaatttttg	1680
cagagttttg	tacataattgt	ccaaatgttc	atcaacactt	ct		1722
<210>	201					

<211> 447

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 4G8 Fab HC-Fc ojal (LALA P329G)

<400> 201

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp 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> 202

<211> 1341
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 4G8 Fab HC-Fc ojal (LALA P329G)
 <400> 202
 gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcc a tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccaggggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg 300
 ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctgggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360
 aagggccctt ccgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc 420
 gctctgggct gcctgtgtaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480
 ggagccctga cctccggcgt gcacaccttc cccgccgtgc tgcagagttc tggcctgtat 540
 agcctgagca gcgtgggtcac cgtgccttct agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600
 aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc caagagctgc 660
 gacaaaactc acacatgccc accgtgcccc gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc 720
 ttctcttccc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780
 tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840
 ggctgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 900
 cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960
 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag 1080
 aaccagggtca gcctctctgt cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140
 tgggagagca atgggcagcg ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200
 gacggctcct tcttcctcgt gagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg 1260
 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320
 ctctccctgt ctccgggtaa a 1341

<210> 203
 <211> 593
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 4G8 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm
 <400> 203
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His

482862.TXT

210 215 220
 Thr Cys Pro Pro Cys 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> 204
 <211> 1779
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 4G8 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm
 <400> 204

gaggtgcaat	tgttgaggatc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	cacctttagc	agttatgcc	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccagggaagg	ggctggagtg	ggctctcagc	attagtggta	gtgggtggtag	cacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaaggggtg	300
ctgggtaatt	ttgactactg	gggccaagga	accctgggtca	ccgtctcgag	tgctagcacc	360
aagggcccat	cggctcttccc	cctggcaccc	tcctccaaga	gcacctctgg	gggcacagcg	420

482862.TXT

gccctgggct	gcctgggtcaa	ggactacttc	cccgaaccgg	tgacgggtgtc	gtggaactca	480
ggcgccctga	ccagcggcgt	gcacaccttc	ccggctgtcc	tacagtcctc	aggactctac	540
tccctcagca	gcgtgggtgac	cgtgcccttc	agcagcttgg	gcacccagac	ctacatctgc	600
aacgtgaatc	acaagcccag	caacaccaag	gtggacaaga	aagttgagcc	caaattcttgt	660
gacaaaactc	acacatgccc	accgtgccc	gcacctgaag	ctgcaggggg	accgtcagtc	720
ttcctcttcc	ccccaaaacc	caaggacacc	ctcatgatct	cccggacccc	tgaggtcaca	780
tgcgtgggtg	tggacgtgag	ccacgaagac	cctgagggtca	agttcaactg	gtacgtggac	840
ggcgtggagg	tgcataatgc	caagacaaag	ccgcgggagg	agcagtacaa	cagcacgtac	900
cgtgtgggtca	gcgtccctcac	cgtccctgcac	caggactggc	tgaatggcaa	ggagtacaag	960
tgcaagggtct	ccaacaaagc	cctcggcgcc	cccatcgaga	aaaccatctc	caaagccaaa	1020
gggcagcccc	gagaaccaca	ggtgtacacc	ctgcccccat	gccgggatga	gctgaccaag	1080
aaccagggtca	gcctgtgggtg	cctgggtcaaa	ggcttctatc	ccagcgacat	cgccgtggag	1140
tgggagagca	atgggcagcc	ggagaacaac	tacaagacca	cgctctccgt	gctggactcc	1200
gacggctcct	tcttctctta	cagcaagctc	accgtggaca	agagcagggtg	gcagcagggg	1260
aacgtcttct	catgctccgt	gatgcatgag	gctctgcaca	accactacac	gcagaagagc	1320
ctctccctgt	ctccgggttg	cggcggaggc	tccggaggcg	gaggttcttg	cggagggtggc	1380
gctcctgcct	cctccagcac	caagaaaacc	cagctccagc	tggaacatct	cctgctggat	1440
ctgcagatga	tcctgaacgg	catcaacaac	tacaagaacc	ccaagctgac	ccggatgctg	1500
accgccaagt	tcgccatgcc	caagaaggcc	accgagctga	aacatctgca	gtgcctggaa	1560
gaggaactga	agcctctgga	agagggtgctg	aacggcgccc	agtccaagaa	cttccacctg	1620
aggcctcggg	acctgatctc	caacatcaac	gtgatcgtgc	tggaactgaa	gggctccgag	1680
acaaccttca	tgtgcgagta	cgccgacgag	acagctacca	tcgtggaatt	tctgaaccgg	1740
tggatcacct	tcgcccagtc	catcatctcc	accctgacc			1779

<210> 205

<211> 215

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 4G8 Fab LC

<400> 205

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			
Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu
	130					135					140				
Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser
145					150					155				160	
Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu
			165					170						175	
Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val
		180						185					190		
Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys
		195					200					205			
Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys									
	210					215									

<210> 206

<211> 645

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

482862.TXT

<223> 4G8 Fab LC

<400> 206

gagatcgtgc	tgaccagtc	ccccggcacc	ctgtctctga	gccctggcga	gagagccacc	60
ctgtcctgca	gagcctccca	gtccgtgtcc	cggtcctacc	tcgcctggta	tcagcagaag	120
cccggccagg	cccctcggct	gctgatcatc	ggcgccctcta	ccagagccac	cggcatccct	180
gaccggttct	ccggctcttg	ctccggcacc	gacttcaccc	tgaccatctc	ccggctggaa	240
cccgaggact	tcgccgtgta	ctactgccag	cagggccagg	tcatccctcc	cacctttggc	300
cagggcacca	aggtggaaat	caagcgtacg	gtggctgcac	catctgtctt	catcttcccg	360
ccatctgatg	agcagttgaa	atctggaact	gcctctgttg	tgtgctgtgt	gaataacttc	420
tatccagag	aggccaaagt	acagtggaa	gtggataacg	ccctccaatc	gggtaactcc	480
caggagagtg	tcacagagca	ggacagcaag	gcagcacct	acagcctcag	cagcaccttg	540
acgctgagca	aagcagacta	cgagaaacac	aaagtctacg	cctgcgaagt	cacccatcag	600
ggcctgagct	cgcccgtcac	aaagagcttc	aacaggggag	agtgt		645

 $\langle 210 \rangle$ 207

<211> 447

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

$\langle 220 \rangle$

<223> 4B9 Fab HC-Fc oja1 (LALA P329G)

<400> 207

Gly1	Val	Gln	Leu	Leu5	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly10	Leu	Val	Gln	Pro	Gly15	Gly
Ser	Leu	Arg	Leu20	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser25	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser30	Ser	Tyr
Ala	Met	Ser35	Trp	Val	Arg	Gln	Ala40	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu45	Glu	Trp	Val
Ser	Ala50	Ile	Ile	Gly	Ser	Gly55	Ala	Ser	Thr	Tyr	Tyr60	Ala	Asp	Ser	Val
Lys65	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile70	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser75	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser85	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp90	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr95	Cys
Ala	Lys	Gly	Trp100	Phe	Gly	Gly	Phe	Asn105	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly110	Thr	Leu
Val	Thr	Val115	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr120	Lys	Gly	Pro	Ser	Val125	Phe	Pro	Leu
Ala	Pro130	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr135	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala140	Ala	Leu	Gly	Cys
Leu145	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe150	Pro	Glu	Pro	Val	Thr155	Val	Ser	Trp	Asn	Ser160
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser165	Gly	Val	His	Thr	Phe170	Pro	Ala	Val	Leu	Gln175	Ser
Ser	Gly	Leu	Tyr180	Ser	Leu	Ser	Ser	Val185	Val	Thr	Val	Pro	Ser190	Ser	Ser
Leu	Gly	Thr195	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys200	Asn	Val	Asn	His	Lys205	Pro	Ser	Asn
Thr	Lys210	Val	Asp	Lys	Lys	Val215	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys220	Asp	Lys	Thr	His
Thr225	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro230	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala235	Gly	Gly	Pro	Ser	Val240
Phe	Leu	Phe	Pro	Pro245	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr250	Leu	Met	Ile	Ser	Arg255	Thr
Pro	Glu	Val	Thr260	Cys	Val	Val	Val	Asp265	Val	Ser	His	Glu	Asp270	Pro	Glu
Val	Lys	Phe275	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp280	Gly	Val	Glu	Val	His285	Asn	Ala	Lys
Thr	Lys290	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln295	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr300	Arg	Val	Val	Ser
Val305	Leu	Thr	Val	Leu	His310	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn315	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys320
Cys	Lys	Val	Ser	Asn325	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala330	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr335	Ile
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Cys	Thr	Leu	Pro

482862.TXT

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> 208
 <211> 1341
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 4B9 Fab HC-Fc ojal (LALA P329G)
 <400> 208

gaggtgcagc	tgctcgaaag	cggcggaggga	ctggtgcagc	ctggcggcag	cctgagactg	60
tcttgcgccg	ccagcggtt	caccttcagc	agctacgcca	tgagctgggt	ccgccaggcc	120
cctggcaagg	gactggaatg	ggtgtccgcc	atcatcggt	ctggcgccag	cacctactac	180
gccgacagcg	tgaaggggccg	gttcaccatc	agccgggaca	acagcaagaa	caccctgtac	240
ctgcagatga	acagcctgcg	ggccgaggac	accgccgtgt	actactgcgc	caagggatgg	300
ttcggcggt	tcaactactg	gggacagggc	accctggtca	cagtgtccag	cgctagcacc	360
aagggcccct	ccgtgttccc	cctggccccc	agcagcaaga	gcaccagcgg	cggcacagcc	420
gctctgggct	gcctggtcaa	ggactacttc	cccagagccc	tgaccgtgtc	ctggaacagc	480
ggagccctga	cctccggcgt	gcacaccttc	cccgccgtgc	tgacagagttc	tggcctgtat	540
agcctgagca	gctgtgtcac	cgctgccttct	agcagcctgg	gcacccagac	ctacatctgc	600
aacgtgaacc	acaagcccag	caacaccaag	gtggacaaga	aggtggagcc	caagagctgc	660
gacaaaactc	acacatgccc	accgtgcccc	gcacctgaag	ctgcaggggg	accgtcagtc	720
ttcctcttcc	ccccaaaacc	caaggacacc	ctcatgatct	cccggacccc	tgaggtcaca	780
tgctgtgtgg	tggacgtgag	ccacgaagac	cctgaggtca	agttcaactg	gtacgtggac	840
ggcgtggagg	tgcataatgc	caagacaaag	ccgcgggagg	agcagtacaa	cagcacgtac	900
cgctgtgtga	gcgtcctcac	cgctcctgcac	caggactggc	tgaatggcaa	ggagtacaag	960
tgaagggtct	ccaacaaagc	cctcggcgcc	cccacgcaga	aaaccatctc	caaagccaaa	1020
gggcagcccc	gagaaccaca	ggtgtgcacc	ctgcccccat	cccgggatga	gctgaccaag	1080
aaccagggtca	gcctctcgtg	cgcagtcaaa	ggcttctatc	ccagcgacat	cgccgtggag	1140
tgggagagca	atgggcagcc	ggagaacaac	tacaagacca	cgctctccgt	gctggactcc	1200
gacggctcct	tcttcctcgt	gagcaagctc	accgtggaca	agagcagggtg	gcagcagggg	1260
aacgtcttct	catgctccgt	gatgcatgag	gctctgcaca	accactacac	gcagaagagc	1320
ctctccctgt	ctccgggtaa	a				1341

<210> 209
 <211> 593
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 4B9 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm
 <400> 209

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

482862.TXT

Thr

```

<210> 210
<211> 1779
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 4B9 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm
<400> 210
gaggtgcagc tgctcgaaag cggcgggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg      60
tcttgcgccg ccagcggcct cacccttcagc agctacgccca tgagctgggt ccgccaggcc      120
cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcggccag cacctactac      180
gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac      240
ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg      300
ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctgggtca cagtgtccag cgctagcacc      360
aagggcccat cggctcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg      420
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca      480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac      540
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc      600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt      660
gacaaaactc acacatgccc accgtgcccc gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc      720
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca      780
tgcgtgggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac      840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac      900
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag      960
tgcaagggtc ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa     1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat gccgggatga gctgaccaag     1080
aacagggtca gcctgtggtg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgcctggag     1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc     1200
gacggctcct tcttctctca cagcaagctc accgtggaca agagcagggt gcagcagggg     1260
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc     1320
ctctccctgt ctccgggttg cggcggaggc tccggaggcg gaggttcttg cggagggtggc     1380
gctcctgcct cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat     1440
ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccgcatgctg     1500
accgccaagt tgcccatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa     1560
gaggaactga agcctctgga agagggtgct aacggcgccc agtccaagaa cttccacctg     1620
aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaaactgaa gggctccgag     1680
acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg     1740
tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc                                1779

```

```

<210> 211
<211> 215
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 3F2 Fab LC
<400> 211
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

```

482862.TXT

```

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> 212
<211> 645
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 3F2 Fab LC
<400> 212
gagatcgtgc tgaccagtc ccccggcacc ctgtctctga gccctggcga gagagccacc 60
ctgtcctgca gagcctccca gtccgtgacc tcctcctacc tcgcctggta tcagcagaag 120
cccgccagg cccctcggct gctgatcaac gtgggcagtc ggagagccac cggcatccct 180
gaccggttct ccggtctctg ctccggcacc gacttcaccc tgaccatctc ccggttgaa 240
cccgaggact tcgccgtgta ctactgccag caggggcatca tgctgcccc cacccttggc 300
caggggacca aggtggaaat caagcgtagc gtggccgctc cctccgtgtt catcttccca 360
ccctccgacg agcagctgaa gtccggcacc gcctccgtcg tgtgcctgct gaacaacttc 420
taccctccgc aggccaaagg gcagtggaag gtggacaacg ccctgcagtc cggcaactcc 480
caggaatccg tcaccgagca ggactccaag gacagcacct actccctgtc ctccaccctg 540
accctgtcca aggccgacta cgagaagcac aagggtgtacg cctgcgaagt gaccaccag 600
ggcctgtcca gccccgtgac caagtccttc aaccggggcg agtgc 645
<210> 213
<211> 446
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> L19 Fab HC-Fc oja1 (LALA P329G)
<400> 213
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1          5          10          15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
          20          25          30
Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
          35          40          45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
          50          55          60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65          70          75          80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
          85          90          95
Ala Lys Pro Phe Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
          100          105          110
Thr Val Ser 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

```

482862.TXT

225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 214

<211> 1338

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> L19 Fab HC-Fc ojal (LALA P329G)

<400> 214

gagggtgcagc	tgttggagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctctggatt	caccttttagc	agtttttcga	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccagggaagg	ggctggagtg	ggtctcatct	atttccggta	gttcgggtac	cacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcaaatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaaccgttt	300
ccgtattttg	actactgggg	ccagggaacc	ctgggtcaccg	tctcgagtgc	tagcaccaag	360
ggccccctccg	tgttccccct	ggccccccagc	agcaagagca	ccagcggcgg	cacagccgct	420
ctggggctgcc	tgggtcaagga	ctacttcccc	gagcccgtga	ccgtgtcctg	gaacagcgga	480
gccctgacct	ccggcggtgca	caccttcccc	gccgtgctgc	agagttcttg	cctgtatagc	540
ctgagcagcg	tgggtcaccgt	gccttctagc	agcctgggca	cccagacccta	catctgcaac	600
gtgaaccaca	agcccagcaa	caccaagggtg	gacaagaagg	tggagcccaa	gagctgcgac	660
aaaactcaca	catgcccacc	gtgcccagca	cctgaagctg	cagggggacc	gtcagtcttc	720
ctcttcccc	caaaacccaa	ggacaccctc	atgatctccc	ggacccctga	ggtcacatgc	780
gtgggtgggtg	acgtgagcca	cgaagaccct	gagggtcaagt	tcaactggta	cgtggacggc	840
gtggagggtgc	ataatgccaa	gacaaagccg	cgggaggagc	agtacaacag	cacgtaccgt	900
gtgggtcagcg	tcctcaccgt	cctgcaccag	gactggctga	atggcaagga	gtacaagtgc	960
aagggtctcca	acaaagccct	cggcgccccc	atcgagaaaa	ccatctccaa	agccaaaggg	1020
cagccccgag	aaccacaggt	gtgcaccctg	cccccatccc	gggatgagct	gaccaagaac	1080
cagggtcagcc	tctcgtgcgc	agtcaaaggc	ttctatccca	gcgacatcgc	cgtggagtgg	1140
gagagcaatg	ggcagccgga	gaacaactac	aagaccacgc	ctcccgtgct	ggactccgac	1200
ggctccttct	tcctcgtgag	caagctcacc	gtggacaaga	gcaggtggca	gcaggggaac	1260
gtcttctcat	gctccgtgat	gcatgaggct	ctgcacaacc	actacacgca	gaagagcctc	1320
tccctgtctc	cgggtaaaa					1338

<210> 215

<211> 592

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> L19 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm

482862.TXT

<400> 215
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
 20 25 30
 Ser Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Ser Gly Ser Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Pro Phe Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 115 120 125
 Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
 130 135 140
 Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
 145 150 155 160
 Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
 165 170 175
 Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
 180 185 190
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
 195 200 205
 Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 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
 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

482862.TXT

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 Leu Lys Pro Leu Glu Val
 515 520 525
 Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
 530 535 540
 Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
 545 550 555
 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> 216

<211> 1776

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> L19 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm

<400> 216

gaggtgcagc	tggtggagtc	tggggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctctggatt	caccttttagc	agtttttcga	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccagggaagg	ggctggagtg	ggtctcatct	atttccggta	gttcgggtac	cacatactac	180
gcagactccg	tgaaggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcaaatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaaccgttt	300
ccgtattttg	actactgggg	ccagggaacc	ctggtcaccg	tctcgagtgc	tagcaccaag	360
ggcccatcgg	tcttccccct	ggcaccctcc	tccaagagca	cctctggggg	cacagcggcc	420
ctgggctgcc	tggtcaagga	ctacttcccc	gaaccgggtga	cggtgtcgtg	gaactcaggc	480
gccctgacca	gcggcgtgca	caccttcccc	gctgtcctac	agtcctcagg	actctactcc	540
ctcagcagcg	tggtgaccgt	gccctccagc	agcttgggca	cccagacctc	catctgcaac	600
gtgaatcaca	agcccagcaa	caccaagggtg	gacaagaaaag	ttgagcccaa	atcttgtgac	660
aaaactcaca	catgcccacc	gtgcccagca	cctgaagctg	caggggggacc	gtcagtcctc	720
ctcttcccc	caaaacccaa	ggacaccctc	atgatctccc	ggacccctga	ggtcacatgc	780
gtggtgggtg	acgtgagcca	cgaagaccct	gagggtcaagt	tcaactggta	cgtggacggc	840
gtggagggtgc	ataatgccaa	gacaaagccg	cgggaggagc	agtacaacag	cacgtaccgt	900
gtggtcagcg	tcctcaccgt	cctgcaccag	gactggctga	atggcaagga	gtacaagtgc	960
aagggtctcca	acaaagccct	cggcgccccc	atcgagaaaa	ccatctccaa	agccaaaggg	1020
cagccccgag	aaccacaggt	gtacaccctg	cccccatgcc	gggatgagct	gaccaagaac	1080
caggtcagcc	tgtggtgcct	ggtcaaaggc	ttctatccca	gcgacatcgc	cgtggagtgg	1140
gagagcaatg	ggcagccgga	gaacaactac	aagaccacgc	ctcccgtgct	ggactccgac	1200
ggctccttct	tcctctacag	caagctcacc	gtggacaaga	gcaggtggca	gcaggggaac	1260
gtcttctcat	gctccgtgat	gcatgaggct	ctgcacaacc	actacacgca	gaagagcctc	1320
tcctgtctc	cgggtggcgg	cggaggctcc	ggaggcggag	gttctggcgg	aggtggcgct	1380
cctgcctcct	ccagcaccaa	gaaaacccag	ctccagctgg	aacatctcct	gctggatctg	1440
cagatgatcc	ccatgcggcat	caacaactac	aagaacccca	agctgaccgg	gatgctgacc	1500
gccaagttcg	ccatgccccaa	gaaggccacc	gagctgaaac	atctgcagtg	cctggaagag	1560
gaactgaagc	ctctggaaga	ggtgctgaac	ggcgccagct	ccaagaactt	ccacctgagg	1620
cctcgggacc	tgatctccaa	catcaacgtg	atcgtgctgg	aactgaaggg	ctccgagaca	1680
accttcatgt	gcgagtacgc	cgacgagaca	gctaccatcg	tggaatttct	gaaccgggtg	1740
atcaccttgc	cccagtccat	catctccacc	ctgacc			1776

<210> 217

<211> 215

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> L19 Fab LC

<400> 217

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

482862.TXT

50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Thr Gly Arg Ile Pro
 85 90 95
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110
 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 115 120 125
 Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140
 Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160
 Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175
 Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190
 Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205
 Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 218

<211> 645

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> L19 Fab LC

<400> 218

gaaattgtgt	tgacgcagtc	tccaggcacc	ctgtctttgt	ctccagggga	aagagccacc	60
ctctcctgca	gggccagtc	gagtgttagc	agcagctact	tagcctggta	ccagcagaaa	120
cctggccagg	ctcccaggct	cctcatctat	tatgcatcca	gcagggccac	tggcatccca	180
gacaggttca	gtggcagtg	gtctgggaca	gacttcactc	tcaccatcag	cagactggag	240
cctgaagatt	ttgcagtgta	ttactgtcag	cagacgggtc	gtattcctcc	gacgttcggc	300
caagggacca	aggtggaaat	caaacgtacg	gtggctgcac	catctgtctt	catcttcccg	360
ccatctgatg	agcagttgaa	atctggaact	gcctctgttg	tgtgcctgct	gaataacttc	420
tatcccagag	aggccaaaag	acagtggaag	gtggataacg	ccctccaatc	gggtaactcc	480
caggagagtg	tcacagagca	ggacagcaag	gacagcacct	acagcctcag	cagcaccctg	540
acgctgagca	aagcagacta	cgagaaacac	aaagtctacg	cctgcgaagt	cacccatcag	600
ggcctgagct	cgcccgtcac	aaagagcttc	aacaggggag	agtggt		645

<210> 219

<211> 445

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> DP47 GS Fab HC-Fc ojal (LALA P329G)

<400> 219

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

482862.TXT

130 135 140
 Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
 145 150 155 160
 Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
 165 170 175
 Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
 180 185 190
 Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
 195 200 205
 Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
 210 215 220
 Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320
 Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser
 340 345 350
 Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys
 355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 220

<211> 1335

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> DP47 GS Fab HC-Fc ojal (LALA P329G)

<400> 220

gaggtgcaat	tgttggagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	cacctttagc	agttatgcc	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccagggaagg	ggctggagtg	ggtctcagct	attagtggta	gtggtggtag	cacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaaggcagc	300
ggatttgact	actggggcca	aggaaccctg	gtcaccgtct	cgagtgtctag	caccaagggc	360
ccctccgtgt	tccccctggc	ccccagcagc	aagagcacca	gcggcggcac	agccgctctg	420
ggctgcctgg	tcaaggacta	cttccccgag	cccgtgaccg	tgtcctggaa	cagcggagcc	480
ctgacctccg	gcgtgcacac	cttccccgcc	gtgctgcaga	gttctggcct	gtatagcctg	540
agcagcgtgg	tcaccgtgcc	ttctagcagc	ctgggcaccc	agacctacat	ctgcaacgtg	600
aaccacaagc	ccagcaacac	caagggtggac	aagaaggtgg	agcccaagag	ctgcgacaaa	660
actcacacat	gcccaccgtg	cccagcacct	gaagctgcag	ggggaccgtc	agtcttcctc	720
ttccccccaa	aacccaagga	caccctcatg	atctcccggg	cccctgaggt	cacatgcgtg	780
gtggtggacg	tgagccacga	agaccctgag	gtcaagttca	actggtacgt	ggacggcggtg	840
gaggtgcata	atgccaagac	aaagccgcgg	gaggagcagt	acaacagcac	gtaccgtgtg	900
gtcagcgtcc	tcaccgtcct	gcaccaggac	tggctgaatg	gcaaggagta	caagtgcaag	960
gtctccaaca	aagccctcgg	cgcccccatc	gagaaaacca	tctccaaagc	caaagggcag	1020

482862.TXT

```

ccccgagaac cacaggtgtg caccctgccc ccatccccggg atgagctgac caagaaccag 1080
gtcagcctct cgtgcgcagt caaaggcttc tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag 1140
agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc 1200
tccttcttcc tcgtgagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1260
ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gaggcctctcc 1320
ctgtctccgg gtaaa 1335

```

<210> 221

<211> 591

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> DP47 GS Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm

<400> 221

```

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1      5      10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20
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 Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50      55      60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65      70      75      80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85      90      95
Ala Lys Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100      105      110
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115      120      125
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130      135      140
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145      150      155      160
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165      170      175
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180      185      190
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195      200      205
Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210      215      220
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225      230      235      240
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245      250      255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
260      265      270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275      280      285
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290      295      300
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305      310      315      320
Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325      330      335
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys
340      345      350
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
355      360      365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370      375      380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385      390      395      400

```

482862.TXT

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly
 435 440 445
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser Ser Ser
 450 455 460
 Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Asp Leu Gln
 465 470 475 480
 Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg
 485 490 495
 Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys
 500 505 510
 His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu
 515 520 525
 Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile
 530 535 540
 Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr
 545 550 555 560
 Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu
 565 570 575
 Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
 580 585 590

<210> 222

<211> 1773

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> DP47 GS Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm

<400> 222

gaggtgcaat	tggttgagtc	tggggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	cacctttagc	agttatgcca	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccagggaagg	ggcttgagtg	ggtctcagct	attagtggta	gtgggtgtag	cacatactac	180
gcagactccg	tgaaggcccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaaggcagc	300
ggatttgact	actggggcca	aggaaccctg	gtcaccgtct	cgagtgtctg	caccaagggc	360
ccatcggtct	tccccctggc	accctcctcc	aagagcacct	ctggggggcac	agcggccctg	420
ggctgccttg	tcaaggacta	cttccccgaa	ccggtgacgg	tgctcgtggaa	ctcaggcgcc	480
ctgaccagcg	gcgtgcacac	cttccccggc	gtcctacagt	cctcaggact	ctactccctc	540
agcagcgtag	tgaccgtgcc	ctccagcagc	ttgggcaccc	agacctacat	ctgcaacgtg	600
aatcacaagc	ccagcaaacac	caaggtggac	aagaaaagtg	agcccaaata	ttgtgacaaa	660
actcacacat	gcccaccgtg	cccagcacct	gaagctgcag	ggggaccgtc	agtcttcctc	720
ttcccccaaa	aacccaagga	cacctctcat	atctcccggg	cccctgaggt	cacatgcgtg	780
gtgggtggacg	tgagccacga	agaccctgag	gtcaagttca	actggtacgt	ggacggcggtg	840
gaggtgcata	atgccaagac	aaagccgcgg	gaggagcagt	acaacagcac	gtaccgtgtg	900
gtcagcgtag	tcaccgtcct	gcaccaggac	tggctgaatg	gcaaggagta	caagtgcagg	960
gtctccaaca	aagccctcgg	cgcccccatc	gagaaaacca	tctccaaagc	caaagggcag	1020
ccccgagaac	cacaggtgta	caccctgccc	ccatgcccgg	atgagctgac	caagaaccag	1080
gtcagcctgt	ggtgcctggt	caaaggcttc	tatcccagcg	acatcgccgt	ggagtgggag	1140
agcaatgggc	agccggagaa	caactacaag	accacgcctc	ccgtgctgga	ctccgacggc	1200
tccttcttcc	tctacagcaa	gctcaccgtg	gacaagagca	ggtggcagca	ggggaacgtc	1260
ttctcatgct	ccgtgatgca	tgaggctctg	cacaaccact	acacgcagaa	gagcctctcc	1320
ctgtctccgg	gtggcgggcg	aggctccgga	ggcggagggt	ctggcgggagg	tggcgctcct	1380
gcctcctcca	gcaccaagaa	aacccagctc	cagctggaac	atctcctgct	ggatctgcag	1440
atgatcctga	acggcatcaa	caactacaag	aacccaagc	tgacccggat	gctgaccgcc	1500
aagttcgcca	tgcccaagaa	ggccaccgag	ctgaaacatc	tgcagtgcct	ggaagaggaa	1560
ctgaagcctc	tgggaagaggt	gctgaacggc	gcccagttca	agaacttcca	cctgaggcct	1620
cgggacctga	tctccaacat	caacgtgatc	gtgctggaac	tgaagggtc	cgagacaacc	1680
ttcatgtgag	agtacgccga	cgagacagct	accatcgtgg	aatttctgaa	ccggtggatc	1740
accttcgccc	agtccatcat	ctccaccctg	acc			1773

<210> 223

<211> 591

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> DP47GL Fab HC-Fc botón (LALA P329G)- IL-2 wt

<400> 223

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Gly Ser Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
 115 120 125
 Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
 130 135 140
 Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
 145 150 155 160
 Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
 165 170 175
 Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
 180 185 190
 Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
 195 200 205
 Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
 210 215 220
 Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320
 Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys
 340 345 350
 Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
 355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly
 435 440 445
 Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ala Pro Thr Ser Ser Ser
 450 455 460

482862.TXT

Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln
 465 470 475 480
 Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg
 485 490 495
 Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys
 500 505 510
 His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu
 515 520 525
 Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile
 530 535 540
 Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr
 545 550 555 560
 Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu
 565 570 575
 Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
 580 585 590

<210> 224

<211> 1773

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> DP47GS Fab HC-Fc botón (LALA P329G)- IL-2 wt

<400> 224

gaggtgcaat	tgttggagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	cacctttagc	agttatgcca	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccaggggaagg	ggctggagtg	ggtctcagct	attagtggta	gtgggtggtag	cacatactac	180
gcagactccg	tgaaggggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaaggcagc	300
ggatttgact	actggggcca	aggaaccctg	gtcaccgtct	cgagtgtctag	caccaagggc	360
ccatcgggtct	tccccctggc	accctcctcc	aagagcacct	ctggggggcac	agcggccctg	420
ggctgcctgg	tcaaggacta	cttccccgaa	ccggtgacgg	tgctgtggaa	ctcaggcgcc	480
ctgaccagcg	gcgtgcacac	cttcccggct	gtcctacagt	cctcaggact	ctactccctc	540
agcagcgtgg	tgaccgtgcc	ctccagcagc	ttgggcaccc	agacctacat	ctgcaacgtg	600
aatcacaagc	ccagcaacac	caaggtggac	aagaaagtgt	agcccaaata	ttgtgacaaa	660
actcacacat	gcccaccgtg	cccagcacct	gaagctgcag	ggggaccgtc	agtcttcctc	720
ttccccccaa	aacccaagga	caccctcatg	atctcccggg	cccctgagggt	cacatgcgtg	780
gtggtggacg	tgagccacga	agaccctgag	gtcaagttca	actggtacgt	ggacggcggt	840
gaggtgcata	atgccaagac	aaagccgcgg	gaggagcagt	acaacagcac	gtaccgtgtg	900
gtcagcgtcc	tcaccgtcct	gcaccaggac	tggctgaatg	gcaaggagta	caagtgcagg	960
gtctccaaca	aagccctcgg	cgcccccatc	gagaaaacca	tctccaaagc	caaagggcag	1020
ccccgagaac	cacaggtgta	caccctgccc	ccatgccggg	atgagctgac	caagaaccag	1080
gtcagcctgt	ggtgcctggg	caaaggcttc	tatcccagcg	acatcgccgt	ggagtgggag	1140
agcaatgggg	agccggagaa	caactacaag	accacgcctc	ccgtgctgga	ctccgacggc	1200
tccttcttcc	tctacagcaa	gctcaccgtg	gacaagagca	ggtggcagca	ggggaacgtc	1260
ttctcatgct	ccgtgatgca	tgaggctctg	cacaaccact	acacgcagaa	gagcctctcc	1320
ctgtctccgg	gtggcggcgg	aggctccgga	ggcggagggt	ctggcggagg	tggcgctcct	1380
acatcctcca	gcaccaagaa	aacccagctc	cagctggaac	atctcctgct	ggatctgcag	1440
atgatcctga	acggcatcaa	caactacaag	aaccccaagc	tgacccggat	gctgaccttc	1500
aagttctaca	tgccaagaa	ggccaccgag	ctgaaacatc	tgagtgccct	ggaagaggaa	1560
ctgaagcctc	tggaagaggt	gctgaacctg	gcccagtgca	agaacttcca	cctgaggcct	1620
cgggacctga	tctccaacat	caacgtgatc	gtgctggaac	tgaagggtc	cgagacaacc	1680
ttcatgtgcg	agtacgccga	cgagacagct	accatcgtgg	aatttctgaa	ccggtggatc	1740
accttcgccc	agtccatcat	ctccaccctg	acc			1773

<210> 225

<211> 215

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> DP47GS Fab LC

<400> 225

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

482862.TXT

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 Tyr Gly Ser Ser Pro
 85 90 95
 Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
 100 105 110
 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 115 120 125
 Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140
 Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160
 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> 226

<211> 645

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> DP47GS Fab LC

<400> 226

gaaatcgtgt	taacgcagtc	tccaggcacc	ctgtctttgt	ctccagggga	aagagccacc	60
ctctcttgca	gggccagtc	gagtgttagc	agcagctact	tagcctggta	ccagcagaaa	120
cctggccagg	ctcccaggct	cctcatctat	ggagcatcca	gcagggccac	tggcatccca	180
gacaggttca	gtggcagtg	atccgggaca	gacttcactc	tcaccatcag	cagactggag	240
cctgaagatt	ttgcagtgta	ttactgtcag	cagtatggta	gctcaccgct	gacgttcggc	300
caggggacca	aagtggaaat	caaacgtacg	gtggctgcac	catctgtctt	catcttccc	360
ccatctgatg	agcagttgaa	atctgggaact	gcctctgttg	tgtgcctgct	gaataacttc	420
tatcccagag	aggccaaagt	acagtggaag	gtggataacg	ccctccaatc	gggtaactcc	480
caggagagtg	tcacagagca	ggacagcaag	gacagcacct	acagcctcag	cagcaccctg	540
acgctgagca	aagcagacta	cgagaaacac	aaagtctacg	cctgcgaagt	cacccatcag	600
ggcctgagct	cgcccgtcac	aaagagcttc	aacaggggag	agtggt		645

<210> 227

<211> 451

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> CH1A1A Fab HC-Fc ojal (wt)

<400> 227

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

482862.TXT

100 105 110
 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val 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
 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 370 375 380
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 385 390 395 400
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 435 440 445
 Pro Gly Lys
 450

<210> 228
 <211> 1353
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> CH1A1A Fab HC-Fc ojal (wt)
 <400> 228

cagggtgcagc	tggtgcagtc	tggcgccgaa	gtgaagaaac	ctggagctag	tgtgaagggtg	60
tcctgcaagg	ccagcggcta	caccttcacc	gagttcggca	tgaactgggt	ccgacaggct	120
ccaggccagg	gcctcgaatg	gatgggctgg	atcaacacca	agaccggcga	ggccacctac	180
gtggaagagt	tcaagggcag	agtgaacctc	accacggaca	ccagcaccag	caccgcctac	240
atggaactgc	ggagcctgag	aagcgacgac	accgccgtgt	actactgcgc	cagatgggac	300
ttcgctatt	acgtggaagc	catggactac	tggggccagg	gcaccaccgt	gaccgtgtct	360
agcgctagca	ccaaggggccc	aagcgtgttc	cctctggccc	ccagcagcaa	gagcacaagc	420
ggcggaacag	ccgccctggg	ctgcctggtc	aaggactact	tccccgagcc	cgtgacagtg	480
tcctggaaca	gcggagccct	gaccagcggc	gtgcacacct	ttccagccgt	gctgcagagc	540
agcggcctgt	acagcctgag	cagcgtggtc	acagtgccta	gcagcagcct	gggcacccag	600
acctacatct	gcaacgtgaa	ccacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	gaagggtggag	660

482862.TXT

```

cccaagagct gcgacaagac ccacacctgt ccccttctgtc ctgcccctga gctgctgggc 720
ggaccagcg tgttcctgtt ccccccaaag cccaaggaca ccctgatgat cagccggacc 780
cccgaagtga cctgcgtggt ggtggacgtg tcccacgagg accctgaagt gaagttcaat 840
tggtacgtgg acggcggtgga ggtgcacaat gccaagacca agccccggga ggaacagtac 900
aacagcacct accgggtggt gtccgtgctg accgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960
aaagagtaca agtgcaaggt ctccaacaag gccctgcctg ccccatcga gaaaaccatc 1020
agcaaggcca agggccagcc cagagaaccc caggtgtgca ccctgcccc cagcagagat 1080
gagctgacca agaaccaggt gtccctgagc tgtgccgtca agggcttcta cccagcgat 1140
atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cctgagaaca actacaagac cccccccct 1200
gtgctggaca gcgacggcag cttcttcctg gtgtccaaac tgaccgtgga caagagccgg 1260
tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac 1320
acccagaagt ccctgagcct gagccccggc aag 1353

```

<210> 229

<211> 599

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> CH1A1A Fab HC-Fc botón (wt)-IL-2 qm

<400> 229

```

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

```

482862.TXT

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 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> 230

<211> 1797

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> CH1A1A Fab HC-Fc botón (wt)-IL-2 qm

<400> 230

cagggtgcagc	tggtgcagtc	tggcgccgaa	gtgaagaaac	ctggagctag	tgtgaagggtg	60
tcctgcaagg	ccagcggcta	caccttcacc	gagttcggca	tgaactgggt	ccgacaggct	120
ccaggccagg	gcctcgaatg	gatgggctgg	atcaacacca	agaccggcga	ggccacctac	180
gtggaagagt	tcaagggcag	agtgccttc	accacggaca	ccagcaccag	caccgcctac	240
atggaactgc	ggagcctgag	aagcgacgac	accgccgtgt	actactgcgc	cagatgggac	300
ttcgctatt	acgtggaagc	catggactac	tggggccagg	gcaccaccgt	gaccgtgtct	360
agcgctagca	ccaagggccc	aagcgtgttc	cctctggccc	ccagcagcaa	gagcacaagc	420
ggcggaaacag	ccgcccctggg	ctgcctgggtc	aaggactact	tccccgagcc	cgtgacagtg	480
tcctggaaca	gcggagccct	gaccagcggc	gtgcacacct	ttccagccgt	gctgcagagc	540
agcggcctgt	acagcctgag	cagcgtggtc	acagtgccta	gcagcagcct	gggcacccag	600
acctacatct	gcaacgtgaa	ccacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	gaaggtggag	660
cccaagagct	gcgacaagac	ccacacctgt	cccccttgtc	ctgcccctga	gctgctgggc	720
ggaccacagc	tggtcctgtt	cccccaaaag	cccaaggaca	ccctgatgat	cagccggacc	780
cccgaagtga	cctgcgtggt	ggtggacgtg	tcccacgagg	accctgaagt	gaagttcaat	840
tggtacgtgg	acggcggtgga	ggtgcacaat	gccaagacca	agccccggga	ggaacagtac	900
aacagcacct	accgggtggt	gtccgtgctg	accgtgctgc	accaggactg	gctgaacggc	960
aaagagtaca	agtgcaaggt	ctccaacaag	gccctgacctg	cccccatcga	gaaaaccatc	1020
agcaaggcca	agggccagcc	cagagaaccc	caggtgtaca	ccctgcccc	ctgcagagat	1080
gagctgacca	agaaccaggt	gtccctgtgg	tgtctggtca	agggcttcta	ccccagcgat	1140
atcgccgtgg	agtgggagag	caacggccag	cctgagaaca	actacaagac	cacccccct	1200
gtgctggaca	gcgacggcag	cttcttcctg	tactccaaac	tgaccgtgga	caagagccgg	1260
tggcagcagg	gcaacgtgtt	cagctgcagc	gtgatgcacg	aggccctgca	caaccactac	1320
acccagaagt	ccctgagcct	gagccccggc	aagtccggag	gcggagggtc	cggcggcgga	1380
ggttctggcg	gaggtggcgc	tcctgcctcc	tccagcacga	agaaaaccca	gctccagctg	1440

482862.TXT

gaacatctcc	tgctggatct	gcagatgac	ctgaacggca	tcaacaacta	caagaacccc	1500
aagctgaccc	ggatgctgac	cgccaagttc	gccatgccc	agaaggccac	cgagctgaaa	1560
catctgcagt	gcctggaaga	ggaactgaag	cctctggaag	aggtgctgaa	cggcgcccag	1620
tccaagaact	tccacctgag	gcctcgggac	ctgatctcca	acatcaacgt	gatcgtgctg	1680
gaactgaagg	gctccgagac	aaccttcatg	tgcgagtacg	ccgacgagac	agctaccatc	1740
gtggaatttc	tgaaccggtg	gatcaccttc	gcccagttca	tcattctccac	cctgacc	1797

<210> 231

<211> 215

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2F1 Fab LC

<400> 231

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				
Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser
145					150					155				160	
Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu
			165						170					175	
Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val
		180						185					190		
Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys
	195						200					205			
Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys									
	210					215									

<210> 232

<211> 645

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2F1 Fab LC

<400> 232

gatattccaga	tgacccagtc	tccatcctcc	ctgtctgcat	ctgtgggaga	cagagtcacc	60
atcacttgca	aggccagtc	ggctgtgggt	acgtatgttg	cgtagtatca	gcagaaacca	120
gggaaagcac	ctaagctcct	gatctattcg	gcattcctacc	gcaaaagggg	agtcccatca	180
aggttcagtg	gcagtggatc	tgggacagat	ttcactctca	ccatcagcag	tctgcaacct	240
gaagatttcg	caacttacta	ctgtcaccaa	tattacacct	atcctctatt	cacgtttggc	300
cagggcacca	agctcgagat	caagcgtacg	gtggctgcac	catctgtctt	catcttccc	360
ccatctgatg	agcagttgaa	atctggaact	gcctctgttg	tgtgcctgct	gaataacttc	420
tatcccagag	aggccaaagt	acagtgggaag	gtggataacg	ccctccaatc	gggtaactcc	480
caggagagtg	tcacagagca	ggacagcaag	gacagcacct	acagcctcag	cagcaccctg	540
acgctgagca	aagcagacta	cgagaaacac	aaagtctacg	cctgcgaagt	cacccatcag	600
ggcctgagct	cgcccgtcac	aaagagcttc	aacaggggag	agtgt		645

<210> 233

<211> 451

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)

<400> 233

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220
 Asp 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 Lys
 450

<210> 234

<211> 1353

```

<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 2B10 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)
<400> 234
cagggtgcaat tgggtgcagtc tgggggctgag gtgaagaagc ctggggtcctc ggtgaagggtc      60
tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc      120
cctggacaag ggctcgagtg gatgggaggg atcatcccta tctttggtac agcaaactac      180
gcacagaagt tccaggggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac      240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac      300
ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc      360
tcagctagca ccaaggggccc atcgggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct      420
ggggggcacag cggccctggg ctgcctgggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacgggtg      480
tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc      540
tcaggactct actccctcag cagcgtgggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag      600
acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag      660
cccaaactct gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg      720
ggaccgtcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca cctcatgat ctcccggacc      780
cctgagggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac      840
tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaaagaca agccgcggga ggagcagtac      900
aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc      960
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcggcg ccccatcga gaaaaccatc     1020
tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca cagggtgtaca ccctgcccc atgccgggat     1080
gagctgacca agaaccaggt cagcctgtgg tgcctgggtca aaggcttcta tcccagcgac     1140
atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cacgcctccc     1200
tggctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg     1260
tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggtctctgca caaccactac     1320
acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt aaa                                     1353
<210> 235
<211> 805
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 2B10 Fab HC-Fc ojal (LALA P329G)-scIL-10
<400> 235
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1      5      10      15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20     25     30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35     40     45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50     55     60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65     70     75     80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85     90     95
Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100    105    110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser 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

```

482862.TXT

Asp 225	Lys	Thr	His	Thr	Cys 230	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala 235	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly 240
Gly	Pro	Ser	Val	Phe 245	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys 250	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu 255	Met
Ile	Ser	Arg	Thr 260	Pro	Glu	Val	Thr	Cys 265	Val	Val	Val	Asp	Val 270	Ser	His
Glu	Asp	Pro 275	Glu	Val	Lys	Phe	Asn 280	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly 285	Val	Glu	Val
His	Asn 290	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro 295	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr 300	Asn	Ser	Thr	Tyr
Arg 305	Val	Val	Ser	Val	Leu 310	Thr	Val	Leu	His	Gln 315	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly 320
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys 325	Lys	Val	Ser	Asn	Lys 330	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro 335	Ile
Glu	Lys	Thr	Ile 340	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly 345	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro 350	Gln	Val
Cys	Thr 355	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp 360	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn 365	Gln	Val	Ser
Leu	Ser 370	Cys	Ala	Val	Lys	Gly 375	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp 380	Ile	Ala	Val	Glu
Trp 385	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln 390	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr 395	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro 400
Val	Leu	Asp	Ser	Asp 405	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu 410	Val	Ser	Lys	Leu	Thr 415	Val
Asp	Lys	Ser	Arg 420	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn 425	Val	Phe	Ser	Cys	Ser 430	Val	Met
His	Glu	Ala 435	Leu	His	Asn	His	Tyr 440	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu 445	Ser	Leu	Ser
Pro	Gly 450	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser 455	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser 460	Gly	Gly	Gly	Gly
Ser 465	Ser	Pro	Gly	Gln	Gly 470	Thr	Gln	Ser	Glu	Asn 475	Ser	Cys	Thr	His	Phe 480
Pro	Gly	Asn	Leu	Pro 485	Asn	Met	Leu	Arg	Asp 490	Leu	Arg	Asp	Ala	Phe 495	Ser
Arg	Val	Lys	Thr 500	Phe	Phe	Gln	Met	Lys 505	Asp	Gln	Leu	Asp	Asn 510	Leu	Leu
Leu	Lys	Glu 515	Ser	Leu	Leu	Glu	Asp 520	Phe	Lys	Gly	Tyr	Leu 525	Gly	Cys	Gln
Ala 530	Leu	Ser	Glu	Met	Ile	Gln 535	Phe	Tyr	Leu	Glu	Glu 540	Val	Met	Pro	Gln
Ala 545	Glu	Asn	Gln	Asp	Pro 550	Asp	Ile	Lys	Ala	His 555	Val	Asn	Ser	Leu	Gly 560
Glu	Asn	Leu	Lys	Thr 565	Leu	Arg	Leu	Arg	Leu 570	Arg	Arg	Cys	His	Arg 575	Phe
Leu	Pro	Cys	Glu 580	Asn	Lys	Ser	Lys	Ala 585	Val	Glu	Gln	Val	Lys 590	Asn	Ala
Phe	Asn	Lys 595	Leu	Gln	Glu	Lys	Gly 600	Ile	Tyr	Lys	Ala	Met 605	Ser	Glu	Phe
Asp	Ile 610	Phe	Ile	Asn	Tyr	Ile 615	Glu	Ala	Tyr	Met	Thr 620	Met	Lys	Ile	Arg
Asn 625	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser 630	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser 635	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser 640
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser 645	Ser	Pro	Gly	Gln	Gly 650	Thr	Gln	Ser	Glu	Asn 655	Ser
Cys	Thr	His	Phe 660	Pro	Gly	Asn	Leu	Pro 665	Asn	Met	Leu	Arg	Asp 670	Leu	Arg
Asp	Ala	Phe 675	Ser	Arg	Val	Lys	Thr 680	Phe	Phe	Gln	Met	Lys 685	Asp	Gln	Leu
Asp	Asn 690	Leu	Leu	Leu	Lys	Glu 695	Ser	Leu	Leu	Glu	Asp 700	Phe	Lys	Gly	Tyr
Leu 705	Gly	Cys	Gln	Ala	Leu 710	Ser	Glu	Met	Ile	Gln 715	Phe	Tyr	Leu	Glu	Glu 720
Val	Met	Pro	Gln	Ala	Glu	Asn	Gln	Asp	Pro	Asp	Ile	Lys	Ala	His	Val

482862.TXT

Asn	Ser	Leu	Gly	725	Asn	Leu	Lys	Thr	730	Leu	Arg	Leu	Arg	Leu	Arg	Arg	735
			740					745						750			
Cys	His	Arg	Phe	Leu	Pro	Cys	Glu	Asn	Lys	Ser	Lys	Ala	Val	Glu	Gln		
		755					760					765					
Val	Lys	Asn	Ala	Phe	Asn	Lys	Leu	Gln	Glu	Lys	Gly	Ile	Tyr	Lys	Ala		
	770					775					780						
Met	Ser	Glu	Phe	Asp	Ile	Phe	Ile	Asn	Tyr	Ile	Glu	Ala	Tyr	Met	Thr		
785					790				795						800		
Met	Lys	Ile	Arg	Asn													
				805													

<210> 236
 <211> 2415
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 2B10 Fab HC-Fc ojal (LALA P329G)-scIL-10
 <400> 236

caggtgcaat	tgggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcctgcaagg	cctccggagg	cacattcagc	agctacgcta	taagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggctcgagtg	gatgggaggg	atcatcccta	tccttggtac	agcaaaactac	180
gcacagaagt	tccagggcag	ggtcaccatt	actgcagaca	aatccacgag	cacagcctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	accgccgtgt	attactgtgc	gagactgtac	300
ggttacgctt	actacgggtg	ttttgactac	tggggccaag	ggaccaccgt	gaccgtctcc	360
tcagctagca	ccaagggccc	atcggctctt	cccctggcac	cctcctccaa	gagcacctct	420
gggggcacag	cggccctggg	ctgcctgggt	aaggactact	tccccgaacc	ggtgacggtg	480
tcgtggaact	caggcgccct	gaccagcggc	gtgcacacct	tcccggctgt	cctacagtcc	540
tcaggactct	actccctcag	cagcgtgggt	accgtgccct	ccagcagctt	gggcacccag	600
acctacatct	gcaacgtgaa	tcacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	gaaagttgag	660
cccaaattctt	gtgacaaaac	tcacacatgc	ccaccgtgcc	cagcacctga	agctgcaggg	720
ggaccgtcag	tcttctctct	cccccaaaaa	cccaaggaca	ccctcatgat	ctccccggacc	780
cctgaggcca	catgcgtggg	ggtggacgtg	agccacgaag	accctgaggt	caagttcaac	840
tggtagctgg	acggcgtgga	ggtgcataat	gccaaagacaa	agccgcggga	ggagcagtag	900
aacagcacgt	accgtgtggg	cagcgtcctc	accgtcctgc	accaggactg	gctgaatggc	960
aaggagtaca	agtgcgaagg	ctccaacaaa	gccctcggcg	cccccatcga	gaaaaccatc	1020
tccaaagcca	aagggcagcc	ccgagaacca	cagggtgtgca	ccctgcccc	atccccgggat	1080
gagctgacca	agaaccaggt	cagcctctcg	tgcgcagtag	aaggcttcta	tcccagcgac	1140
atcgccgtgg	agtgggagag	caatgggcag	cgggagacaa	actacaagac	cacgcctccc	1200
gtgctggact	ccgacggctc	cttcttcctc	gtgagcaagc	tcaccgtgga	caagagcagg	1260
tggcagcagg	ggaacgtctt	ctcatgctcc	gtgatgcatg	aggctctgca	caaccactac	1320
acgcagaaga	gcctctccct	gtctccgggt	ggcggcggag	gctccggagg	cggaggatct	1380
gggggaggcg	gaagtagccc	gggccagggc	acccagagcg	agaacagctg	caccacttct	1440
cccggcaacc	tgcccaacat	gctgcgggac	ctgagggacg	ccttcagcag	agtgaaaacc	1500
ttcttccaga	tgaaggacca	gctggacaac	ctgctgtgta	aagagagcct	gctggaagat	1560
ttcaagggct	acctgggctg	tcaggccctg	agcgagatga	tccagttcta	cctggaagaa	1620
gtgatgcccc	aggccgagaa	ccaggacccc	gacatcaagg	cccacgtgaa	cagcctgggc	1680
gagaacctga	aaacctgctg	gctgagactg	cggcggtgcc	acagatttct	gccctgcgag	1740
aacaagagca	aggccgtgga	acagggtgaag	aacgccttca	acaagctgca	ggaaaagggc	1800
atctacaagg	ccatgtccga	gttcgacatc	ttcatcaact	acatcgaagc	ttacatgacc	1860
atgaagatca	gaaacggcgg	aggcggatct	ggcggcgggt	gaagtggagg	cggaggatct	1920
gggggaggcg	gaagtagccc	gggccagggc	acccagagcg	agaacagctg	caccacttct	1980
cccggcaacc	tgcccaacat	gctgcgggac	ctgagggacg	ccttcagcag	agtgaaaacc	2040
ttcttccaga	tgaaggacca	gctggacaac	ctgctgctga	aagagagcct	gctggaagat	2100
ttcaagggct	acctgggctg	tcaggccctg	agcgagatga	tccagttcta	cctggaagaa	2160
gtgatgcccc	aggccgagaa	ccaggacccc	gacatcaagg	cccacgtgaa	cagcctgggc	2220
gagaacctga	aaacctgctg	gctgagactg	cggcggtgcc	acagatttct	gccctgcgag	2280
aacaagagca	aggccgtgga	acagggtgaag	aacgccttca	acaagctgca	ggaaaagggc	2340
atctacaagg	ccatgtccga	gttcgacatc	ttcatcaact	acatcgaggc	ctacatgaca	2400
atgaaaatcc	gcaat					2415

<210> 237
 <211> 631
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

482862.TXT

<220>

<223> 2B10 Fab HC-Fc ojal (LALA P329G)-IL-10M1

<400> 237

```

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1      5      10      15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20      25      30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35      40      45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50      55      60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65      70      75      80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85      90      95
Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
100     105     110
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115     120     125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130     135     140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145     150     155     160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165     170     175
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180     185     190
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195     200     205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210     215     220
Asp 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
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 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450     455     460
Ser Ser Pro Gly Gln Gly Thr Gln Ser Glu Asn Ser Cys Thr His Phe
465     470     475     480

```

482862.TXT

Pro Gly Asn Leu Pro Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp Ala Phe Ser
 485 490 495
 Arg Val Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Leu Leu
 500 505 510
 Leu Lys Glu Ser Leu Leu Glu Asp Phe Lys Gly Tyr Leu Gly Cys Gln
 515 520 525
 Ala Leu Ser Glu Met Ile Gln Phe Tyr Leu Glu Glu Val Met Pro Gln
 530 535 540
 Ala Glu Asn Gln Asp Pro Asp Ile Lys Ala His Val Asn Ser Leu Gly
 545 550 555 560
 Glu Asn Leu Lys Thr Leu Arg Leu Arg Leu Arg Arg Cys His Arg Phe
 565 570 575
 Leu Pro Cys Glu Asn Gly Gly Gly Ser Gly Gly Lys Ser Lys Ala Val
 580 585 590
 Glu Gln Val Lys Asn Ala Phe Asn Lys Leu Gln Glu Lys Gly Ile Tyr
 595 600 605
 Lys Ala Met Ser Glu Phe Asp Ile Phe Ile Asn Tyr Ile Glu Ala Tyr
 610 615 620
 Met Thr Met Lys Ile Arg Asn
 625 630

<210> 238

<211> 1893

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10 Fab HC-Fc ojal (LALA P329G)-IL-10M1

<400> 238

caggtgcaat	tggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcctgcaagg	cctccggagg	cacattcagc	agctacgcta	taagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggctcgagtg	gatgggaggg	atcatcccta	tctttgggtac	agcaaaactac	180
gcacagaagt	tccagggcag	ggtcaccatt	actgcagaca	aatccacgag	cacagcctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	accgccgtgt	attactgtgc	gagactgtac	300
ggttacgctt	actacgggtg	ttttgactac	tggggccaag	ggaccaccgt	gaccgtctcc	360
tcagctagca	ccaagggtccc	atcggctctt	cccctggcac	cctcctccaa	gagcacctct	420
gggggcacag	cggccctggg	ctgcctgggt	aaggactact	tccccgaacc	ggtgacggtg	480
tcgtggaact	caggcgccct	gaccagcggt	gtgcacacct	tcccggtgt	cctacagtcc	540
tcaggactct	actccctcag	cagcgtgggt	accgtgccct	ccagcagctt	gggcacccag	600
acctacatct	gcaacgtgaa	tcacaagccc	agcaaacacca	agggtggaaa	gaaagttgag	660
cccaaatctt	gtgacaaaac	tcacacatgc	ccaccgtgcc	cagcacctga	agctgcaggg	720
ggaccgtcag	tcttctctct	cccccaaaa	cccaaggaca	ccctcatgat	ctcccggaac	780
cctgagggtca	catgcgtggg	ggtggacgtg	agccacgaag	accctgaggt	caagttcaac	840
tgttacgtgg	acggcggtgga	ggtgcataat	gccaagacaa	agccgcggga	ggagcagtac	900
aacagcacgt	accgtgtggg	cagcgtcctc	accgtcctgc	accaggactg	gctgaatggc	960
aaggagtaca	actgcaaggt	ctccaacaaa	gccctcggtg	ccccatcga	gaaaaccatc	1020
tccaaagcca	aagggcagcc	ccgagaacca	cagggtgtgc	ccctgcccc	atcccgggat	1080
gagctgacca	agaaccaggt	cagcctctcg	tgcgcagtca	aaggcttcta	tcccagcgac	1140
atcgccgtgg	agtgggagag	caatgggcag	ccggagaaca	actacaagac	cacgcctccc	1200
gtgctggact	ccgacggctc	cttcttcctc	gtgagcaagc	tcaccgtgga	caagagcagg	1260
tggcagcagg	ggaacgtctt	ctcatgtctc	gtgatgcatg	aggctctgca	caaccactac	1320
acgcagaaga	gcctctccct	gtctccgggt	ggcggcgag	gctccggagg	cggaggaagt	1380
ggcggcggtg	gcagctctcc	aggccagggt	acccagagcg	agaacagctg	caccacttct	1440
cccggcaacc	tgcccaacat	gctgcgggac	ctgaggggac	ccttcagcag	agtgaaaacc	1500
ttcttccaga	tgaaggacca	gctggacaac	ctgctgctga	aagagagcct	gctggaagat	1560
ttcaagggtct	acctgggctg	tcaggccctg	agcgagatga	tccagttcta	cctggaagaa	1620
gtgatgcccc	aggccgagaa	ccaggacccc	gacatcaagg	cccacgtgaa	cagcctgggc	1680
gagaacctga	aaacctgctg	gctgagactg	cggcggtgcc	acagatttct	gccctgagag	1740
aacggcggtg	gctctggcgg	aaagtccaag	gccgtgggaa	agggtgaagaa	cgcttcaac	1800
aagctgcagg	aaaagggtcat	ctacaaggcc	atgagcgagt	tcgacatctt	catcaactac	1860
atcgaagctt	acatgacaat	gaagatacga	aac			1893

<210> 239

<211> 214

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

482862.TXT

<220>

<223> 2B10 Fab LC

<400> 239

```

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1      5      10      15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20     25     30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35     40     45
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50     55     60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65     70     75     80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asn Gly Leu Gln Pro Ala
85     90     95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100    105    110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115    120    125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130    135    140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145    150    155    160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165    170    175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180    185    190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195    200    205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

```

<210> 240

<211> 642

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10 Fab LC

<400> 240

```

gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga cccgggtcacc      60
atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca      120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca      180
aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcaacttca ccatcagcag cttgcagcct      240
gaagattttg ccacctatta ctgcttgcat aatgggtctgc agcccgcgac gtttggccag      300
ggcaccaaag tcgagatcaa gcgtacggtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca      360
tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat      420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgccc tccaatcggg taactcccag      480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg      540
ctgagcaaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc      600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt                                642

```

<210> 241

<211> 447

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 4G8 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)

<400> 241

```

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

```

482862.TXT

50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp 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 Lys
 435 440 445

<210> 242

<211> 1341

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 4G8 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)

<400> 242

gaggtgcaat	tgttgaggatc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	caccttttagc	agttatgccca	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccaggggaagg	ggctggagtg	ggtctcagct	attagtggta	gtgggtggtag	cacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaaggggtg	300
ctgggtaatt	ttgactactg	gggccaagga	accctgggtca	ccgtctcgag	tgctagcacc	360
aagggcccat	cggctcttccc	cctggcacc	tcctccaaga	gcacctctgg	gggcacagcg	420

482862.TXT

gccctgggct	gcctgggtcaa	ggactacttc	cccgaaccgg	tgacgggtgtc	gtggaactca	480
ggcgccctga	ccagcggcgt	gcacaccttc	ccggctgtcc	tacagtcctc	aggactctac	540
tccctcagca	gcgtgggtgac	cgtgccctcc	agcagcttgg	gcacccagac	ctacatctgc	600
aacgtgaatc	acaagcccag	caacaccaag	gtggacaaga	aagttgagcc	caaattctgt	660
gacaaaactc	acacatgccc	accgtgccc	gcacctgaag	ctgcaggggg	accgtcagtc	720
ttcctcttcc	ccccaaaacc	caaggacacc	ctcatgatct	cccggacccc	tgaggtcaca	780
tgcgtgggtg	tggacgtgag	ccacgaagac	cctgaggtca	agttcaactg	gtacgtggac	840
ggcgtggagg	tgcataatgc	caagacaaag	ccgcgggagg	agcagtacaa	cagcacgtac	900
cgtgtgggtca	gcgtccctcac	cgtccctgcac	caggactggc	tgaatggcaa	ggagtacaag	960
tgcaagggtct	ccaacaaaagc	cctcggcgcc	cccattcgaga	aaaccatctc	caaagccaaa	1020
gggcagcccc	gagaaccaca	ggtgtacacc	ctgcccccat	gccgggatga	gctgaccaag	1080
aaccagggtca	gcctgtgggtg	cctggtcaaaa	ggcttctatc	ccagcgacat	cgccgtggag	1140
tgggagagca	atgggcagcc	ggagaacaac	tacaagacca	cgctctccgt	gctggactcc	1200
gacggctcct	tcttcctcta	cagcaagctc	accgtggaca	agagcagggtg	gcagcagggg	1260
aacgtcttct	catgctccgt	gatgcatgag	gctctgcaca	accactacac	gcagaagagc	1320
ctctccctgt	ctccgggtaa	a				1341

<210> 243

<211> 801

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 4G8 Fab HC-Fc oja1 (LALA P329G)-scIL-10

<400> 243

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1			5					10					15		
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35				40						45			
Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50				55						60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70				75					80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85					90					95		
Ala	Lys	Gly	Trp	Leu	Gly	Asn	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
			100					105				110			
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu
		115					120					125			
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys
	130					135					140				
Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser
145					150				155					160	
Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser
			165						170				175		
Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser
		180						185				190			
Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn
	195						200					205			
Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	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	

482862.TXT

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 Ser Lys Ala Lys 325 Gly Gln Pro Arg Glu 330 Pro Gln Val Cys Thr 335
 Pro Ser Arg Asp 340 Glu Leu Thr Lys 345 Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser 360 Asp Ile Ala Val Glu 365 Trp Glu Ser Asn
 Gly 370 Gln Pro Glu Asn Asn 375 Tyr Lys Thr Thr Pro 380 Val Leu Asp Ser
 385 Glu Ser Phe Phe 390 Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 Asp Gly Ser Phe 405 Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 Trp Gln Gln Gly 420 Asn Val Phe Ser Cys 425 Ser Val Met His Glu Ala Leu
 His Asn His 435 Tyr Thr Gln Lys Ser 440 Leu Ser Leu Ser Pro 445 Gly Gly Gly
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Pro Gly
 Gln Gly Thr Gln Ser Glu 455 Asn Ser Cys Thr His 460 Phe Pro Gly Asn Leu
 465 Glu Thr Gln Ser Glu 470 Asn Ser Cys Thr His 475 Phe Pro Gly Asn Leu
 Pro Asn Met Leu Arg 485 Asp Leu Arg Asp Ala 490 Phe Ser Arg Val Lys Thr
 Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Leu Leu Leu Lys Glu Ser
 Leu Leu Glu Asp Phe Lys Gly Tyr 505 Leu Gly Cys Gln Ala Leu Ser Glu
 Met Ile Gln Phe Tyr Leu Glu 535 Glu Val Met Pro Gln Ala Glu Asn Gln
 540 Asp Pro Asp Ile Lys Ala His Val Asn Ser Leu Gly Glu Asn Leu Lys
 545 Thr Leu Arg Leu Arg 550 Leu Arg Arg Cys His 555 Arg Phe Leu Pro Cys Glu
 Asn Lys Ser Lys 565 Ala Val Glu Gln Val Lys Asn Ala Phe Asn Lys Leu
 Gln Glu Lys Gly Ile Tyr Lys Ala Met Ser Glu Phe Asp Ile Phe Ile
 Asn Tyr Ile Glu Ala Tyr Met 600 Thr Met Lys Ile Arg Asn Gly Gly Gly
 610 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 625 Ser Ser Pro Gly Gln Gly Thr Gln Ser Glu Asn Ser Cys Thr His Phe
 Pro Gly Asn Leu Pro Asn Met Leu Arg 635 Asp Leu Arg Asp Ala Phe Ser
 Arg Val Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Leu Leu
 Leu Lys Glu Ser Leu Leu Glu Asp Phe Lys Gly Tyr 685 Leu Gly Cys Gln
 Ala Leu Ser Glu Met Ile Gln Phe Tyr Leu Glu 700 Glu Val Met Pro Gln
 705 Ala Glu Asn Gln Asp Pro Asp Ile Lys Ala His Val Asn Ser Leu Gly
 Glu Asn Leu Lys Thr Leu Arg Leu Arg Leu Arg Arg Cys His Arg Phe
 Leu Pro Cys Glu Asn Lys Ser Lys 745 Ala Val Glu Gln Val Lys Asn Ala
 Phe Asn Lys Leu Gln Glu Lys Gly Ile Tyr Lys Ala Met Ser Glu Phe
 770 Asp Ile Phe Ile Asn Tyr 775 Ile Glu Ala Tyr Met Thr Met Lys Ile Arg
 785 Asn

```

<211> 2403
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 4G8 Fab HC-Fc ojal (LALA P329G)-scIL-10
<400> 244
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc      60
tcctgtgcag cctccggatt caccttttagc agttatgcc a tgagctgggt ccgccaggct      120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactac      180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat      240
ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggggtg      300
ctgggtaatt ttgactactg gggccaaggga accctgggtca ccgtctcagag tgctagcacc      360
aagggcccat cggctcttccc cctggcacccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg      420
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca      480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggtgtgcc tacagtccctc aggactctac      540
tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc      600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt      660
gacaaaactc acacatgccc accgtgcccc gcacctgaag ctgcagggggg accgtcagtc      720
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca      780
tgctgtgttg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac      840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac      900
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag      960
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa      1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag      1080
aaccagggtca gcctctctgt cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag      1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc      1200
gacggctcct tcttcctcgt gagcaagctc accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg      1260
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc      1320
ctctccctgt ctccgggttg cggcggaggc tccggaggcg gaggatctgg gggaggcgga      1380
agtagcccg gcccaggcac ccagagcgag aacagctgca cccacttccc cggcaacctg      1440
cccaacatgc tgcgggaccc gagggacgcc ttcagcagag tgaaaacctt cttccagatg      1500
aaggaccagc tggacaacct gctgctgaaa gagagcctgc tggaagattt caagggtac      1560
ctgggctgtc aggccttgag cgagatgata cagttctacc tggaagaagt gatgccccag      1620
gccgagaacc aggaccccga catcaaggcc cacgtgaaca gcctgggcga gaacctgaaa      1680
accctgcggc tgagactgcg gcggtgccac agatttctgc cctgcgagaa caagagcaag      1740
gccgtggaac aggtgaagaa cgccttcaac aagctgcagg aaaagggcat ctacaaggcc      1800
atgtccgagt tcgacatctt catcaactac atcgaagctt acatgaccat gaagatcaga      1860
aacggcggag gcggtcttg cggcggtgga agtggaggcg gaggatctgg gggaggcgga      1920
agtagcccg gcccaggcac ccagagcgag aacagctgca cccacttccc cggcaacctg      1980
cccaacatgc tgcgggacct gagggacgcc ttcagcagag tgaaaacctt cttccagatg      2040
aaggaccagc tggacaacct gctgctgaaa gagagcctgc tggaagattt caagggtac      2100
ctgggctgtc aggccttgag cgagatgata cagttctacc tggaagaagt gatgccccag      2160
gccgagaacc aggaccccga catcaaggcc cacgtgaaca gcctgggcga gaacctgaaa      2220
accctgcggc tggagctgcg gcggtgccac agatttctgc cctgcgagaa caagagcaag      2280
gccgtggaac aggtgaagaa cgccttcaac aagctgcagg aaaagggcat ctacaaggcc      2340
atgtccgagt tcgacatctt catcaactac atcagggcct acatgacaat gaaaatccgc      2400
aat

```

```

<210> 245
<211> 627
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> 4G8 Fab HC-Fc ojal (LALA P329G)-IL-10M1
<400> 245
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

```


482862.TXT

65	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	70	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	75	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	80	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		
	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	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		
	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		
	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		
	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	Gly	Gly			
				435					440								445		
	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ser	Pro	Gly			
				450					455								460		
	Gln	Gly	Thr	Gln	Ser	Glu	Asn	Ser	Cys	Thr	His	Phe	Pro	Gly	Asn	Leu			
				465					470								475		
	Pro	Asn	Met	Leu	Arg	Asp	Leu	Arg	Asp	Ala	Phe	Ser	Arg	Val	Lys	Thr			
				485						490							495		
	Phe	Phe	Gln	Met	Lys	Asp	Gln	Leu	Asp	Asn	Leu	Leu	Leu	Lys	Glu	Ser			
				500					505								510		
	Leu	Leu	Glu	Asp	Phe	Lys	Gly	Tyr	Leu	Gly	Cys	Gln	Ala	Leu	Ser	Glu			
				515					520								525		
	Met	Ile	Gln	Phe	Tyr	Leu	Glu	Glu	Val	Met	Pro	Gln	Ala	Glu	Asn	Gln			
				530					535								540		
	Asp	Pro	Asp	Ile	Lys	Ala	His	Val	Asn	Ser	Leu	Gly	Glu	Asn	Leu	Lys			
				545					550								555		
	Thr	Leu	Arg	Leu	Arg	Leu	Arg	Arg	Cys	His	Arg	Phe	Leu	Pro	Cys	Glu			
				565						570							575		

482862.TXT

Asn Gly Gly Gly Ser Gly Gly Lys Ser Lys Ala Val Glu Gln Val Lys
 580 585 590
 Asn Ala Phe Asn Lys Leu Gln Glu Lys Gly Ile Tyr Lys Ala Met Ser
 595 600 605
 Glu Phe Asp Ile Phe Ile Asn Tyr Ile Glu Ala Tyr Met Thr Met Lys
 610 615 620
 Ile Arg Asn
 625

<210> 246
 <211> 1881
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 4G8 Fab HC-Fc ojal (LALA P329G)-IL-10M1
 <400> 246

gaggtgcaat	tgttggagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	caccttagc	agttatgcc	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccagggaagg	ggctggagtg	ggtctcagct	attagtggta	gtgggtggtag	cacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaaggggtg	300
ctgggtaatt	ttgactactg	gggccaagga	accctgggtca	ccgtctcgag	tgctagcacc	360
aagggcccat	cggctctccc	cctggcaccc	tcctccaaga	gcacctctgg	gggcacagcg	420
gccctgggct	gcctggtcaa	ggactacttc	cccgaaccgg	tgacggtgtc	gtggaactca	480
ggcgccctga	ccagcggcgt	gcacaccttc	ccggctgtcc	tacagtcctc	aggactctac	540
tcctctcagca	gcgtggtgac	cgtgccctcc	agcagcttgg	gcacccagac	ctacatctgc	600
aacgtgaatc	acaagcccag	caacaccaag	gtggacaaga	aagttgagcc	caaattctgt	660
gacaaaactc	acacatgccc	accgtgccc	gcacctgaag	ctgcaggggg	accgtcagtc	720
ttcctcttcc	ccccaaaacc	caaggacacc	ctcatgatct	cccggacccc	tgaggtcaca	780
tgctgtgtgg	tggacgtgag	ccacgaagac	cctgagggtca	agttcaactg	gtacgtggac	840
ggcgtggagg	tgcataatgc	caagacaaag	ccgcggggagg	agcagtacaa	cagcacgtac	900
cgtgtggtca	gcgtcctcac	cgtcctgcac	caggactggc	tgaatggcaa	ggagtacaag	960
tgcaaggtct	ccaacaaagc	cctcggcgcc	cccatcgaga	aaacctctc	caaagccaaa	1020
gggcagcccc	gagaaccaca	ggtgtgcacc	ctgcccccat	cccgggatga	gctgaccaag	1080
aaccagggtca	gcctctctgt	cgcagtcaaa	ggcttctatc	ccagcgacat	cgccgtggag	1140
tgggagagca	atgggcagcc	ggagaacaac	tacaagacca	cgcctcccgt	gctggactcc	1200
gacggctcct	tcttcctcgt	gagcaagctc	accgtggaca	agagcagggtg	gcagcagggg	1260
aacgtcttct	catgctccgt	gatgcatgag	gctctgcaca	accactacac	gcagaagagc	1320
ctctccctgt	ctccgggtgg	cggcggaggc	tccggaggcg	gaggaagtgg	cggcgggtgg	1380
agctctccag	gccagggcac	ccagagcgag	aacagctgca	cccacttccc	cggcaacctg	1440
cccaacatgc	tgccgggacct	gagggacgcc	ttcagcagag	tgaaaacctt	cttccagatg	1500
aaggaccagc	tggacaacct	gctgtgtaaa	gagagcctgc	tggaaagattt	caagggctac	1560
ctgggctgtc	aggccctgag	cgagatgatc	cagttctacc	tggagaagat	gatgccccag	1620
gccgagaacc	aggacccccga	catcaaggcc	cacgtgaaca	gcctgggcga	gaacctgaaa	1680
accctgcggc	tgagctgcgc	gcgggtgccac	agatttctgc	cctgcgagaa	cggcggaggc	1740
tctggcggaa	agtccaaggc	cgtggaacag	gtgaagaacg	ccttcaacaa	gctgcaggaa	1800
aagggcatct	acaaggccat	gagcgagttc	gacatcttca	tcaactacat	cgaagcttac	1860
atgacaatga	agatacgaaa	c				1881

<210> 247
 <211> 366
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> IL-2 qm-Fc botón (LALA P329G) (IL-2 N-terminal)
 <400> 247

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

482862.TXT

65	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	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr
		130					135					140				
	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
145						150					155					160
	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
					165					170					175	
	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
				180					185					190		
	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
			195					200					205			
	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
		210					215					220				
	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
225						230					235					240
	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
					245					250					255	
	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro
				260					265					270		
	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val
			275					280					285			
	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly
		290					295					300				
	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp
305						310					315					320
	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp
					325					330					335	
	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His
				340					345					350		
	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys		
			355					360					365			

<210> 248
 <211> 1098
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> IL-2 qm-Fc botón (LALA P329G) (IL-2 N-terminal)
 <400> 248

gctcctgcct	cctccagcac	caagaaaacc	cagctccagc	tggaacatct	cctgctggat	60
ctgcagatga	tcctgaacgg	catcaacaac	tacaagaacc	ccaagctgac	ccggatgctg	120
accgccaagt	tcgccatgcc	caagaaggcc	accgagctga	aacatctgca	gtgcctggaa	180
gaggaactga	agcctctgga	agagggtgctg	aacggcgccc	agtccaagaa	cttccacctg	240
aggcctcggg	acctgatctc	caacatcaac	gtgatcgtgc	tggaactgaa	gggctccgag	300
acaaccttca	tgtgcgagta	cgccgacgag	acagctacca	tcgtggaatt	tctgaaccgg	360
tggtacacct	tcgcccagtc	catcatctcc	accctgacct	ccggtgggtg	cggatccgac	420
aaaactcaca	catgcccacc	gtgcccagca	cctgaagctg	cagggggacc	gtcagtcctc	480
ctcttccccc	caaaacccaa	ggacaccctc	atgatctccc	ggacccctga	ggtcacatgc	540
gtgggtgggtg	acgtgagcca	cgaagaccct	gagggtcaagt	tcaactggta	cgtggacggc	600
gtggaggtgc	ataatgccaa	gacaaagccg	cgggaggagc	agtacaacag	cacgtaccgt	660
gtggtcagcg	tcctcaccgt	cctgcaccag	gactggctga	atggcaagga	gtacaagtgc	720
aaggctctcca	acaaagccct	cggcgccccc	atcgagaaaa	ccatctccaa	agccaaaggg	780
cagccccgag	aaccacaggt	gtacaccctg	cccccatgcc	gggatgagct	gaccaagaac	840
caggtcagcc	tgtgggtgcct	ggtcaaaggc	ttctatccca	gcgacatcgc	cgtggagtgg	900
gagagcaatg	ggcagccgga	gaacaactac	aagaccacgc	ctcccgtgct	ggactccgac	960
ggctccttct	tcctctacag	caagctcacc	gtggacaaga	gcagggtggca	gcaggggaac	1020
gtcttctcat	gctccgtgat	gcatgaggct	ctgcacaacc	actacacgca	gaagagcctc	1080
tccctgtctc	cgggtaaa					1098

```

<210> 249
<211> 384
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> IL-7-Fc botón (LALA P329G) (IL-7 N-terminal)
<400> 249
Asp Cys Asp Ile Glu Gly Lys Asp Gly Lys Gln Tyr Glu Ser Val Leu
1      5      10      15
Met Val Ser Ile Asp Gln Leu Leu Asp Ser Met Lys Glu Ile Gly Ser
      20      25      30
Asn Cys Leu Asn Asn Glu Phe Asn Phe Phe Lys Arg His Ile Cys Asp
      35      40      45
Ala Asn Lys Glu Gly Met Phe Leu Phe Arg Ala Ala Arg Lys Leu Arg
      50      55      60
Gln Phe Leu Lys Met Asn Ser Thr Gly Asp Phe Asp Leu His Leu Leu
65      70      75      80
Lys Val Ser Glu Gly Thr Thr Ile Leu Leu Asn Cys Thr Gly Gln Val
      85      90      95
Lys Gly Arg Lys Pro Ala Ala Leu Gly Glu Ala Gln Pro Thr Lys Ser
      100      105      110
Leu Glu Glu Asn Lys Ser Leu Lys Glu Gln Lys Lys Leu Asn Asp Leu
      115      120      125
Cys Phe Leu Lys Arg Leu Leu Gln Glu Ile Lys Thr Cys Trp Asn Lys
130      135      140
Ile Leu Met Gly Thr Lys Glu His Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr
145      150      155      160
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
      165      170      175
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
      180      185      190
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
      195      200      205
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
210      215      220
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
225      230      235      240
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
      245      250      255
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr
      260      265      270
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
      275      280      285
Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
290      295      300
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
305      310      315      320
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
      325      330      335
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
      340      345      350
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
      355      360      365
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
370      375      380

```

```

<210> 250
<211> 1152
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> IL-7-Fc botón (LALA P329G) (IL-7 N-terminal)
<400> 250
gattgtgata ttgaaggtaa agatggcaaa caatatgaga gtgttctaata ggtcagcatc

```

482862.TXT

gatcaattat	tggacagcat	gaaagaaatt	ggtagcaatt	gcctgaataa	tgaatttaac	120
ttttttaaaa	gacatatctg	tgatgcta	aaggaaggtg	tgtttttatt	ccgtgctgct	180
cgcaagttga	ggcaatttct	taaaatgaat	agcactgggtg	attttgatct	ccacttatta	240
aaagtttcag	aaggcacaac	aatactgttg	aactgcactg	gccagggtta	aggaagaaaa	300
ccagctgccc	tgggtgaagc	ccaaccaaca	aagagtttgg	aagaaaataa	atctttaaag	360
gaacagaaaa	aactgaatga	cttggtgttc	ctaaagagac	tattacaaga	gataaaaact	420
tgttggaata	aaattttgat	gggcactaaa	gaacacggtg	gtggcggatc	cgacaaaact	480
cacacatgcc	caccgtgccc	agcacctgaa	gctgcagggg	gaccgtcagt	cttcctcttc	540
cccccaaaac	ccaaggacac	cctcatgata	tcccggaccc	ctgagggtcac	atgcgtgggtg	600
gtggacgtga	gccacgaaga	ccctgaggtc	aagttcaact	ggtacgtgga	cggcgtggag	660
gtgcataatg	ccaagacaaa	gccgcgggag	gagcagtaca	acagcacgta	ccgtgtggtc	720
agcgtcctca	ccgtcctgca	ccaggactgg	ctgaatggca	aggagtacaa	gtgcaagggtc	780
tccaacaaaag	ccctcggcgc	ccccatcgag	aaaaccatct	ccaaagccaa	agggcagccc	840
cgagaaccac	aggtgtacac	cctgccccca	tgccgggatg	agctgaccaa	gaaccagggtc	900
agcctgtggg	gcctgggtcaa	aggcttctat	cccagcgaca	tcgccgtgga	gtgggagagc	960
aatgggcagc	cggagaacaa	ctacaagacc	acgcctcccg	tgctggactc	cgacggctcc	1020
ttcttctctt	acagcaagct	caccgtggac	aagagcaggt	ggcagcaggg	gaacgtcttc	1080
tcatgctccg	tgatgcatga	ggctctgcac	aaccactaca	cgcagaagag	cctctccctg	1140
tctccgggta	aa					1152

<210> 251

<211> 398

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> IFN-a-Fc botón (LALA P329G) (IFN-a N-terminal)

<400> 251

Ser	Cys	Asp	Leu	Pro	Gln	Thr	His	Ser	Leu	Gly	Ser	Arg	Arg	Thr	Leu
1				5					10					15	
Met	Leu	Leu	Ala	Gln	Met	Arg	Lys	Ile	Ser	Leu	Phe	Ser	Cys	Leu	Lys
			20					25					30		
Asp	Arg	His	Asp	Phe	Gly	Phe	Pro	Gln	Glu	Glu	Phe	Gly	Asn	Gln	Phe
		35					40					45			
Gln	Lys	Ala	Glu	Thr	Ile	Pro	Val	Leu	His	Glu	Met	Ile	Gln	Gln	Ile
	50					55					60				
Phe	Asn	Leu	Phe	Ser	Thr	Lys	Asp	Ser	Ser	Ala	Ala	Trp	Asp	Glu	Thr
65					70					75				80	
Leu	Leu	Asp	Lys	Phe	Tyr	Thr	Glu	Leu	Tyr	Gln	Gln	Leu	Asn	Asp	Leu
			85						90					95	
Glu	Ala	Cys	Val	Ile	Gln	Gly	Val	Gly	Val	Thr	Glu	Thr	Pro	Leu	Met
		100						105					110		
Lys	Glu	Asp	Ser	Ile	Leu	Ala	Val	Arg	Lys	Tyr	Phe	Gln	Arg	Ile	Thr
		115					120					125			
Leu	Tyr	Leu	Lys	Glu	Lys	Lys	Tyr	Ser	Pro	Cys	Ala	Trp	Glu	Val	Val
	130					135					140				
Arg	Ala	Glu	Ile	Met	Arg	Ser	Phe	Ser	Leu	Ser	Thr	Asn	Leu	Gln	Glu
145					150					155				160	
Ser	Leu	Arg	Ser	Lys	Glu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr
			165						170					175	
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
			180					185					190		
Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
		195					200					205			
Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
	210					215					220				
Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr
225					230					235				240	
Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val
			245						250					255	
Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys
		260						265					270		
Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser
	275					280						285			
Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro

482862.TXT

290 295 300
 Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
 305 310 315 320
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 325 330 335
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 340 345 350
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 355 360 365
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 370 375 380
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 385 390 395

<210>

252

<211>

1194

<212>

DNA

<213>

Secuencia artificial

<220>

<223>

IFN-a-Fc botón (LALA P329G) (IFN-a N-terminal)

<400>

252

agctgtgacc	tgcctcagac	acacagcctg	ggcagccggc	ggaccctgat	gctgctggcc	60
cagatgcgga	agatcagcct	gttcagctgc	ctgaaggacc	ggcacgactt	cggcttccct	120
caggaagagt	tcggcaacca	gttccagaag	gccgagacaa	tccccgtgct	gcacgagatg	180
atccagcaga	ttttcaacct	gttcagcacc	aaggacagca	gcgccgcctg	ggacgagaca	240
ctgctggaca	agttctacac	cgagctgtac	cagcagctga	acgacctgga	agcctgcgtg	300
atccagggcg	tgggctgtac	cgagacaccc	ctgatgaagg	aagatagcat	cctggccgtg	360
cggaagtatt	tccagcggat	caccctgtac	ctgaaagaga	agaagtacag	cccctgcgcc	420
tgggaggtcg	tgcggggccga	gatcatgcgg	agcttcagcc	tgagcaccaa	cctgcaggaa	480
agcctgcgga	gcaaagaggg	tgggtggcga	tccgacaaaa	ctcacacatg	cccaccgtgc	540
ccagcacctg	aagctgcagg	gggaccgtca	gtcttcctct	tcccccaaaa	acccaaggac	600
accctcatga	tctcccgga	ccctgaggtc	acatgcgtgg	tggtggacgt	gagccacgaa	660
gacctgagg	tcaagttcaa	ctggtacgtg	gacggcgtgg	aggtgcataa	tgccaagaca	720
aagccgcggg	aggagcagta	caacagcacg	taccgtgtgg	tcagcgtcct	caccgtcctg	780
caccaggact	ggctgaatgg	caaggagtac	aagtgcagg	tctccaacaa	agccctcggc	840
gcccccatcg	agaaaaccat	ctccaaagcc	aaagggcagc	cccgagaacc	acaggtgtac	900
accctgcccc	catgccggga	tgagctgacc	aagaaccagg	tcagcctgtg	gtgcctggtc	960
aaaggcttct	atcccagcga	catcgccgtg	gagtgaggaga	gcaatgggca	gccggagaac	1020
aactacaaga	ccacgcctcc	cgtgctggac	tccgacggct	ccttcttcct	ctacagcaag	1080
ctcaccgtgg	acaagagcag	gtggcagcag	gggaacgtct	tctcatgctc	cgatgatcat	1140
gaggctctgc	acaaccacta	cacgcagaag	agcctctccc	tgtctccggg	taaa	1194

<210>

253

<211>

593

<212>

PRT

<213>

Secuencia artificial

<220>

<223>

28H1 Fab HC-Fc (LALA P329G)-IL-2 qm

<400>

253

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 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 115 120 125

482862.TXT

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 Leu
 180 185 190
 Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro 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
 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr 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 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 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> 254
 <211> 1779
 <212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 28H1 Fab HC-Fc (LALA P329G)-IL-2 qm

<400> 254

gaagtgcagc	tgctggaatc	cggcggaggc	ctggtgcagc	ctggcggatc	tctgagactg	60
tcctgcgccg	cctccggctt	caccttctcc	tcccacgcca	tgctcctgggt	ccgacaggct	120
cctggcaaaag	gcctggaatg	ggtgtccgcc	atctgggcct	ccggcgagca	gtactacgcc	180
gactctgtga	agggccgggt	caccatctcc	cgggacaact	ccaagaacac	cctgtacctg	240
cagatgaact	ccctgcgggc	cgaggacacc	gccgtgtact	actgtgccaa	gggctggctg	300
ggcaacttcg	actactgggg	acagggcacc	ctggtcaccg	tgtccagcgc	tagcaccaag	360
ggcccatcgg	tcttccccct	ggcaccctcc	tccaagagca	cctctggggg	cacagcggcc	420
ctgggctgcc	tgggtcaagga	ctacttcccc	gaaccgggtga	cggtgtcgtg	gaactcaggc	480
gccctgacca	gcggcggtga	caccttcccc	gctgtcctac	agtcctcagg	actctactcc	540
ctcagcagcg	tgggtgaccgt	gccctccagc	agcttggggc	cccagaccta	catctgcaac	600
gtgaatcaca	agcccagcaa	caccaagggtg	gacaagaaaag	ttgagcccaa	atcttgtgac	660
aaaactcaca	catgcccacc	gtgcccagca	cctgaagctg	cagggggacc	gtcagtcctt	720
ctcttcccc	caaaacccaa	ggacaccctc	atgatctccc	ggacccctga	ggtcacatgc	780
gtggtggtgg	acgtgagcca	cgaagaccct	gagggtcaagt	tcaactggta	cgtggacggc	840
gtggagggtgc	ataatgccaa	gacaaagccg	cgggaggagc	agtacaacag	cacgtaccgt	900
gtggtcagcg	tcctcaccgt	cctgcaccag	gactggctga	atggcaagga	gtacaagtgc	960
aagggtctcca	acaaagccct	cggcgcccc	atcgagaaaa	ccatctccaa	agccaaaggg	1020
cagccccgag	aaccacaggt	gtacaccctg	cccccatccc	gggatgagct	gaccaagaac	1080
caggtcagcc	tgacctgcct	ggtcaaaggc	ttctatccca	gcgacatcgc	cgtggagtgg	1140
gagagcaatg	ggcagccgga	gaacaactac	aagaccacgc	ctcccgtgct	ggactccgac	1200
ggctccttct	tcctctacag	caagctcacc	gtggacaaga	gcaggtggca	gcaggggaac	1260
gtcttctcat	gctccgtgat	gcatgaggct	ctgcacaacc	actacacgca	gaagagcctc	1320
tccttgtctc	cgggtggcgg	cggaggctcc	ggaggcggag	gttctggcgg	agggtggctcc	1380
gcacctgcct	caagttctac	aaagaaaaca	cagctacaac	tggagcattt	actgctggat	1440
ttacagatga	ttttgaatgg	aattaataat	tacaagaatc	ccaaactcac	caggatgctc	1500
acagccaagt	ttgccatgcc	caagaaggcc	acagaactga	aacatcttca	gtgtctagaa	1560
gaagaactca	aacctctgga	ggaagtgcta	aatggcgctc	aaagcaaaaa	ctttcactta	1620
agaccaggg	acttaatcag	caatatcaac	gtaatatgtc	tggaactaaa	gggatctgaa	1680
acaacattca	tgtgtgaata	tgctgatgag	acagcaacca	ttgtagaatt	tctgaacaga	1740
tggattacct	ttgcccacaa	catcatctca	acactgact			1779

<210> 255

<211> 473

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> proteína de fusión IL-2R-beta-Fc(ojal) murina

<400> 255

Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp
1			5					10					15		
Phe	Pro	Leu	Leu	Leu	Trp	Phe	Pro	Gly	Ala	Arg	Cys	Ala	Val	Lys	
			20				25					30			
Asn	Cys	Ser	His	Leu	Glu	Cys	Phe	Tyr	Asn	Ser	Arg	Ala	Asn	Val	Ser
		35				40					45				
Cys	Met	Trp	Ser	His	Glu	Glu	Ala	Leu	Asn	Val	Thr	Thr	Cys	His	Val
	50				55						60				
His	Ala	Lys	Ser	Asn	Leu	Arg	His	Trp	Asn	Lys	Thr	Cys	Glu	Leu	Thr
65				70					75					80	
Leu	Val	Arg	Gln	Ala	Ser	Trp	Ala	Cys	Asn	Leu	Ile	Leu	Gly	Ser	Phe
			85					90					95		
Pro	Glu	Ser	Gln	Ser	Leu	Thr	Ser	Val	Asp	Leu	Leu	Asp	Ile	Asn	Val
			100				105						110		
Val	Cys	Trp	Glu	Glu	Lys	Gly	Trp	Arg	Arg	Val	Lys	Thr	Cys	Asp	Phe
		115				120					125				
His	Pro	Phe	Asp	Asn	Leu	Arg	Leu	Val	Ala	Pro	His	Ser	Leu	Gln	Val
	130			135						140					
Leu	His	Ile	Asp	Thr	Gln	Arg	Cys	Asn	Ile	Ser	Trp	Lys	Val	Ser	Gln
145				150					155					160	
Val	Ser	His	Tyr	Ile	Glu	Pro	Tyr	Leu	Glu	Phe	Glu	Ala	Arg	Arg	Arg
			165					170					175		

482862.TXT

Leu Leu Gly His Ser Trp Glu Asp Ala Ser Val Leu Ser Leu Lys Gln
 180 185 190
 Arg Gln Gln Trp Leu Phe Leu Glu Met Leu Ile Pro Ser Thr Ser Tyr
 195 200 205
 Glu Val Gln Val Arg Val Lys Ala Gln Arg Asn Asn Thr Gly Thr Trp
 210 215 220
 Ser Pro Trp Ser Gln Pro Leu Thr Phe Arg Thr Arg Pro Ala Asp Pro
 225 230 235 240
 Met Lys Glu Gly Ala Gln Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
 245 250 255
 Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
 260 265 270
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
 275 280 285
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
 290 295 300
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
 305 310 315 320
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 370 375 380
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 385 390 395 400
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430
 Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 435 440 445
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 256

<211> 1422

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> proteína de fusión IL-2R-beta-Fc(ojal) murina

<400> 256

atggacatga	gggtccccgc	tcagctcctg	ggcctcctgc	tgtcttggtt	ccccctcctg	60
ctgctctggt	tcccaggtgc	caggtgtgca	gtgaaaaact	gttcccatct	tgaatgcttc	120
tacaactcaa	gagccaatgt	ctcttgcatg	tggagccatg	aagaggctct	gaatgtcaca	180
acctgccacg	tccatgccaa	gtcgaacctg	cgacactgga	acaaaacctg	tgagctaact	240
cttgtgaggc	aggcatcctg	ggcctgcaac	ctgatccctg	ggtcgttccc	agagtcccag	300
tacttgacct	ccgtggacct	ccttgacata	aatgtggtgt	gctgggaaga	gaagggttgg	360
cgtagggtaa	agacctgcga	cttccatccc	tttgacaacc	ttcgctggtt	ggcccccat	420
tccctccaag	ttctgcacat	tgataccag	agatgtaaca	taagctggaa	ggtctcccag	480
gtctctcact	acattgaacc	atacttgga	tttgaggccc	gtagacgtct	tctgggccac	540
agctgggagg	atgcatccgt	attaagcctc	aagcagagac	agcagtggct	cttcttgagg	600
atgctgatcc	ctagtacctc	atatgaggtc	caggtgaggg	tcaaagctca	acgaaacaat	660
accgggacct	ggagtccctg	gagccagccc	ctgacctttc	ggacaaggcc	agcagatccc	720
atgaaggagg	gagctcagga	caaaactcac	acatgcccac	cgtagccagc	acctgaactc	780
ctgggggggac	cgtagctctt	cctcttcccc	ccaaaaccca	aggacaccct	catgatctcc	840
cggacccctg	aggtcacatg	cgtaggtggtg	gacgtgagcc	acgaagaccc	tgaggtcaag	900
ttcaactggt	acgtggacgg	cgtaggaggtg	cataatgcca	agacaaagcc	gcgggaggag	960
cagtacaaca	gcacgtaccg	tgtggtcagc	gtcctcaccc	tcctgcacca	ggactggctg	1020
aatggcaagg	agtacaagtg	caaggtctcc	aacaaagccc	tcccagcccc	catcgagaaa	1080

482862.TXT

accatctcca	aagccaaagg	gcagccccga	gaaccacagg	tgtgcaccct	gcccccatcc	1140
cgggatgagc	tgaccaagaa	ccaggtcagc	ctctcgtgcg	cagtcaaagg	cttctatccc	1200
agcgacatcg	ccgtggagtg	ggagagcaat	gggcagccgg	agaacaacta	caagaccacg	1260
cctcccgtgc	tggactccga	cggtccttc	ttcctcgtga	gcaagctcac	cgtaggacaag	1320
agcaggtggc	agcaggggaa	cgtcttctca	tgctccgtga	tgcatgaggc	tctgcacaac	1380
cactacacgc	agaagagcct	ctccctgtct	ccgggtaaat	ga		1422

<210> 257

<211> 500

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> proteína de fusión IL-2R-gamma-Fc(botón) murina

<400> 257

Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Trp
1				5				10					15	
Phe	Pro	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	Phe	Pro	Gly	Ala	Arg	Cys	Trp	Ser
		20						25				30		Ser
Lys	Val	Leu	Met	Ser	Ser	Ala	Asn	Glu	Asp	Ile	Lys	Ala	Asp	Leu
		35					40					45		Ile
Leu	Thr	Ser	Thr	Ala	Pro	Glu	His	Leu	Ser	Ala	Pro	Thr	Leu	Pro
	50					55				60				Leu
Pro	Glu	Val	Gln	Cys	Phe	Val	Phe	Asn	Ile	Glu	Tyr	Met	Asn	Cys
65				70					75					80
Trp	Asn	Ser	Ser	Ser	Glu	Pro	Gln	Ala	Thr	Asn	Leu	Thr	Leu	His
			85					90					95	Tyr
Arg	Tyr	Lys	Val	Ser	Asp	Asn	Asn	Thr	Phe	Gln	Glu	Cys	Ser	His
		100						105					110	Tyr
Leu	Phe	Ser	Lys	Glu	Ile	Thr	Ser	Gly	Cys	Gln	Ile	Gln	Lys	Glu
		115					120					125		Asp
Ile	Gln	Leu	Tyr	Gln	Thr	Phe	Val	Val	Gln	Leu	Gln	Asp	Pro	Gln
	130					135					140			Lys
Pro	Gln	Arg	Arg	Ala	Val	Gln	Lys	Leu	Asn	Leu	Gln	Asn	Leu	Val
145				150					155					160
Pro	Arg	Ala	Pro	Glu	Asn	Leu	Thr	Leu	Ser	Asn	Leu	Ser	Glu	Ser
			165					170					175	Gln
Leu	Glu	Leu	Arg	Trp	Lys	Ser	Arg	His	Ile	Lys	Glu	Arg	Cys	Leu
		180						185					190	Gln
Tyr	Leu	Val	Gln	Tyr	Arg	Ser	Asn	Arg	Asp	Arg	Ser	Trp	Thr	Glu
	195						200					205		Leu
Ile	Val	Asn	His	Glu	Pro	Arg	Phe	Ser	Leu	Pro	Ser	Val	Asp	Glu
	210					215					220			Leu
Lys	Arg	Tyr	Thr	Phe	Arg	Val	Arg	Ser	Arg	Tyr	Asn	Pro	Ile	Cys
225				230						235				Gly
Ser	Ser	Gln	Gln	Trp	Ser	Lys	Trp	Ser	Gln	Pro	Val	His	Trp	Gly
			245					250					255	Ser
His	Thr	Val	Glu	Glu	Asn	Pro	Ser	Leu	Phe	Ala	Leu	Glu	Ala	Gly
		260						265					270	Ala
Gln	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu
		275					280					285		Leu
Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr
	290					295					300			Leu
Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val
305					310				315					320
His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val
			325						330				335	Glu
Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser
		340						345					350	Thr
Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu
		355				360						365		Asn
Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala
	370					375					380			Pro
Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro
385					390				395					Gln
														400

482862.TXT

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 405 410 415
 Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 420 425 430
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 435 440 445
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 450 455 460
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 465 470 475 480
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 485 490 495
 Ser Pro Gly Lys
 500

<210> 258
 <211> 1503
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> proteína de fusión IL-2R-gamma-Fc(botón) murina
 <400> 258

atggacatga	gggtccccgc	tcagctcctg	ggcctcctgc	tgtctctgggt	ccccctcctg	60
ctgctctggt	tcccagggtg	cagggtgttg	agttccaagg	tcctcatgtc	cagtgcgaat	120
gaagacatca	aagctgattt	gacccctgact	tctacagccc	ctgaacacct	cagtgtctcct	180
actctgcccc	ttccagaggt	tcagtgcttt	gtgttcaaca	tagagtacat	gaattgcact	240
tggaaatagca	gttctgagcc	tcaggcaacc	aacctcacgc	tgactatag	gtacaaggta	300
tctgataata	atacattcca	ggagtgcagt	cactatttgt	tctccaaaga	gattacttct	360
ggctgtcaga	tacaaaaaga	agatatccag	ctctaccaga	catttggtgt	ccagctccag	420
gacccccaga	aaccccagag	gagagctgta	cagaagctaa	acctacagaa	tcttgtgatc	480
ccacgggctc	cagaaaaatct	aacactcagc	aatctgagtg	aatcccagct	agagctgaga	540
tggaaaaagca	gacatatata	agaacgctgt	ttacaatact	tggtgcagta	ccggagcaac	600
agagatcgaa	gctggagcga	actaatagtg	aatcatgaac	ctagattctc	cctgcctagt	660
gtggatgagc	tgaaacggta	cacatttcgg	gttcggagcc	gctataacct	aatctgtgga	720
agttctcaac	agtggagtaa	atggagccag	cctgtccact	gggggagtc	tactgtagag	780
gagaatcctt	ccttggttgc	actggaagct	ggagctcagg	acaaaactca	cacatgcccc	840
ccgtgcccag	cacctgaact	cctgggggga	ccgtcagctc	tctctttccc	cccaaaaccc	900
aaggacaccc	tcatgatctc	ccggacccct	gaggtcacat	gcgtgggtgt	ggacgtgagc	960
cacgaagacc	ctgaggtcaa	gttcaactgg	tacgtggacg	gcgtggaggt	gcataatgcc	1020
aagacaaagc	cgcgggagga	gcagtacaac	agcacgtacc	gtgtgggtcag	cgctcctcacc	1080
gtcctgcacc	aggactggct	gaatggcaag	gagtacaagt	gcaaggctctc	caacaaagcc	1140
ctcccagccc	ccatcgagaa	aaccatctcc	aaagccaaag	ggcagccccg	agaaccacag	1200
gtgtacaccc	tgcccccatg	ccgggatgag	ctgaccaaga	accaggctcag	cctgtgggtgc	1260
ctgggtcaaa	gcttctatcc	cagcgacatc	gccgtggagt	gggagagcaa	tgggcagccg	1320
gagaacaact	ccaagaccac	gcctcccgtg	ctggactccg	acggctcctt	cttctcttac	1380
agcaagctca	ccgtggacaa	gagcagggtg	cagcagggga	acgtcttctc	atgctccgtg	1440
atgcatgagg	ctctgcacaa	ccactacacg	cagaagagcc	tctccctgtc	tccgggtaaa	1500
tga						1503

<210> 259
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> subunidad alfa IL-2R murina + Avi-tag + His-tag
 <400> 259

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

482862.TXT

65 70 75 80
 Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln Lys Glu
 85 90 95
 Gln Gln Thr Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His Gln
 100 105 110
 Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys His Glu
 115 120 125
 Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His Tyr
 130 135 140
 Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile Ser
 145 150 155 160
 Ile Cys Lys Met Lys Cys Gly Lys Thr Gly Trp Thr Gln Pro Gln Leu
 165 170 175
 Thr Cys Val Asp Glu Gln Leu Tyr Phe Gln Gly Gly Ser Gly Leu Asn
 180 185 190
 Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu Ala Arg Ala His
 195 200 205
 His His His His His
 210

<210> 260
 <211> 642
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> subunidad alfa IL-2R murina + Avi-tag + His-tag
 <400> 260

atgggatgga	gctgtatcat	cctcttcttg	gtagcaacag	ctaccggtgt	gcattccgaa	60
ctgtgtctgt	atgacccacc	cgagggtcccc	aatgccacat	tcaaagccct	ctcctacaag	120
aacggcacca	tcctaaactg	tgaatgcaag	agagggtttcc	gaagactaaa	ggaattgggtc	180
tatatgctgt	gcttaggaaa	ctcctggagc	agcaactgcc	agtgcaccag	caactcccat	240
gacaaatcga	gaaagcaagt	tacagctcaa	cttgaacacc	agaaagagca	acaaaccaca	300
acagacatgc	agaagccaac	acagtctatg	caccaagaga	accttacagg	tcactgcagg	360
gagccacctc	cttggaaaaca	tgaagatttc	aagagaatct	atcatttcgt	ggaaggacag	420
agtgttcact	acgagtgtat	tccgggatac	aaggctctac	agagaggtcc	tgctattagc	480
atctgcaaga	tgaagtgtgg	gaaaacgggg	tggactcagc	cccagctcac	atgtgtcgac	540
gaacagttat	attttcaggg	cggctcaggc	ctgaacgaca	tcttcgaggc	ccagaagatc	600
gagtggcacg	aggctcagc	tcaccaccat	caccatcact	ga		642

<210> 261
 <211> 480
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> proteína de fusión IL-2R-beta-Fc(botón) de Cynomolgus + Avi-tag
 <400> 261

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Ala Val Asn Gly Thr Ser Arg Phe Thr Cys Phe Tyr Asn
 20 25 30
 Ser Arg Ala Asn Ile Ser Cys Val Trp Ser Gln Asp Gly Ala Leu Gln
 35 40 45
 Asp Thr Ser Cys Gln Val His Ala Trp Pro Asp Arg Arg Arg Trp Asn
 50 55 60
 Gln Thr Cys Glu Leu Leu Pro Val Ser Gln Ala Ser Trp Ala Cys Asn
 65 70 75 80
 Leu Ile Leu Gly Thr Pro Asp Ser Gln Lys Leu Thr Ala Val Asp Ile
 85 90 95
 Val Thr Leu Arg Val Met Cys Arg Glu Gly Val Arg Trp Arg Met Met
 100 105 110
 Ala Ile Gln Asp Phe Lys Pro Phe Glu Asn Leu Arg Leu Met Ala Pro
 115 120 125
 Ile Ser Leu Gln Val Val His Val Glu Thr His Arg Cys Asn Ile Ser
 130 135 140
 Trp Lys Ile Ser Gln Ala Ser His Tyr Phe Glu Arg His Leu Glu Phe

482862.TXT

145	Glu	Ala	Arg	Thr	Leu	150	Ser	Pro	Gly	His	Thr	155	Trp	Glu	Glu	Ala	Pro	160	Leu
					165							170						175	
	Met	Thr	Leu	Lys	Gln	Lys	Gln	Glu	Trp	Ile	Cys	Leu	Glu	Thr	Leu	Thr			
				180						185						190			
	Pro	Asp	Thr	Gln	Tyr	Glu	Phe	Gln	Val	Arg	Val	Lys	Pro	Leu	Gln	Gly			
			195					200						205					
	Glu	Phe	Thr	Thr	Trp	Ser	Pro	Trp	Ser	Gln	Pro	Leu	Ala	Phe	Arg	Thr			
		210					215					220							
	Lys	Pro	Ala	Ala	Leu	Gly	Lys	Asp	Thr	Gly	Ala	Gln	Asp	Lys	Thr	His			
225					230						235					240			
	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val			
				245						250					255				
	Phe	Leu	Phe	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr				
			260					265						270					
	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu			
			275					280						285					
	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys			
		290					295					300							
	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser			
305					310						315					320			
	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys			
				325						330					335				
	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile			
			340					345						350					
	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro			
		355						360					365						
	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu			
		370					375					380							
	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn			
385					390						395					400			
	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser				
				405					410					415					
	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg			
			420					425						430					
	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu			
			435				440						445						
	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys	Ser			
		450				455						460							
	Gly	Gly	Leu	Asn	Asp	Ile	Phe	Glu	Ala	Gln	Lys	Ile	Glu	Trp	His	Glu			
465					470						475					480			

<210> 262
 <211> 1443
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> proteína de fusión IL-2R-beta-Fc(botón) de Cynomolgus + Avi-tag
 <400> 262

atgggatgga	gctgtatcat	cctcttcttg	gtagcaacag	ctaccggtgt	gcattccgcg	60
gtcaacggca	cttcccgggt	cacatgcttc	tacaactcga	gagccaacat	ctcctgtgtc	120
tggagccaag	atgggggctc	gcaggacact	tcctgccaa	tccacgcctg	gccggacaga	180
cggcgggtga	accaaacctg	tgagctgctc	cctgtgagtc	aagcatcctg	ggcctgcaac	240
ctgatcctcg	gaaccccgag	ttctcagaaa	ctgaccgcag	tggatatcgt	caccctgagg	300
gtgatgtgcc	gtgaaggggt	gcgatggagg	atgatggcca	tccaggactt	caaacccttt	360
gagaaccttc	gcctgatggc	ccccatctcc	ctccaagtgc	tccacgtgga	gaccacaga	420
tgcaacataa	gctggaaaat	ctcccaagcc	tcccactact	ttgaaagaca	cctggagtgt	480
gaggcccgga	cgctgtcccc	aggccacacc	tgggaggagg	ccccctgat	gaccctcaag	540
cagaagcagg	aatggatctg	cctggagacg	ctcaccacag	acaccagta	tgagtttcag	600
gtgcgggtca	agcctctgca	aggcgagttc	acgacctgga	gcccctggag	ccagcccctg	660
gccttcagga	caaagcctgc	agcccttgga	aaggacaccg	gagctcagga	caaaactcac	720
acatgcccac	cgtgcccagc	acctgaactc	ctggggggac	cgtcagtctt	cctcttcccc	780
ccaaaaccca	aggacaccct	catgatctcc	cggacccctg	aggtcacatg	cgtgggtggtg	840
gacgtgagcc	acgaagaccc	tgaggtcaag	ttcaactggt	acgtggacgg	cgtggagggtg	900

482862.TXT

cataatgcc	agacaaagcc	gcgggaggag	cagtacaaca	gcacgtaccg	tgtgggtcagc	960
gtcctcaccg	tcctgcacca	ggactggctg	aatggcaagg	agtacaagtg	caaggtctcc	1020
aacaaagccc	ttccagcccc	catcgagaaa	accatctcca	aagccaaagg	gcagccccga	1080
gaaccacagg	tgtacaccct	gccccatgc	cgggatgagc	tgaccaagaa	ccaggtcagc	1140
ctgtgggtgcc	tggtcaaagg	cttctatccc	agcgacatcg	ccgtggagtg	ggagagcaat	1200
gggcagccgg	agaacaacta	caagaccacg	cctcccgtgc	tggaactccga	cggctccttc	1260
ttcctctaca	gcaagctcac	cggtggacaag	agcaggtggc	agcaggggaa	cgctcttctca	1320
tgctccgtga	tgcatgaggc	tctgcacaac	cactacacgc	agaagagcct	ctccctgtct	1380
ccgggtaaat	ccggaggcct	gaacgacatc	ttcgaggccc	agaagattga	atggcacgag	1440
tga						1443

<210> 263

<211> 489

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> proteína de fusión IL-2R-gamma-Fc(ojal) de Cynomolgus

<400> 263

Met	Gly	Trp	Ser	Cys	Ile	Ile	Leu	Phe	Leu	Val	Ala	Thr	Ala	Thr	Gly	
1				5					10					15		
Val	His	Ser	Leu	Asn	Thr	Thr	Ile	Leu	Thr	Pro	Asn	Gly	Asn	Glu	Asp	
			20					25					30			
Ala	Thr	Thr	Asp	Phe	Phe	Leu	Thr	Ser	Met	Pro	Thr	Asp	Ser	Leu	Ser	
			35				40					45				
Val	Ser	Thr	Leu	Pro	Leu	Pro	Glu	Val	Gln	Cys	Phe	Val	Phe	Asn	Val	
	50					55					60					
Glu	Tyr	Met	Asn	Cys	Thr	Trp	Asn	Ser	Ser	Ser	Glu	Pro	Gln	Pro	Thr	
65					70				75					80		
Asn	Leu	Thr	Leu	His	Tyr	Trp	Tyr	Lys	Asn	Ser	Asp	Asn	Asp	Lys	Val	
				85					90					95		
Gln	Lys	Cys	Ser	His	Tyr	Leu	Phe	Ser	Glu	Glu	Ile	Thr	Ser	Gly	Cys	
			100					105					110			
Gln	Leu	Gln	Lys	Lys	Glu	Ile	His	Leu	Tyr	Gln	Thr	Phe	Val	Val	Gln	
		115				120						125				
Leu	Gln	Asp	Pro	Arg	Glu	Pro	Arg	Arg	Gln	Ala	Thr	Gln	Met	Leu	Lys	
	130					135					140					
Leu	Gln	Asn	Leu	Val	Ile	Pro	Trp	Ala	Pro	Glu	Asn	Leu	Thr	Leu	Arg	
145					150				155						160	
Lys	Leu	Ser	Glu	Ser	Gln	Leu	Glu	Leu	Asn	Trp	Asn	Asn	Arg	Phe	Leu	
			165						170					175		
Asn	His	Cys	Leu	Glu	His	Leu	Val	Gln	Tyr	Arg	Thr	Asp	Trp	Asp	His	
			180					185					190			
Ser	Trp	Thr	Glu	Gln	Ser	Val	Asp	Tyr	Arg	His	Lys	Phe	Ser	Leu	Pro	
		195					200					205				
Ser	Val	Asp	Gly	Gln	Lys	Arg	Tyr	Thr	Phe	Arg	Val	Arg	Ser	Arg	Phe	
	210					215					220					
Asn	Pro	Leu	Cys	Gly	Ser	Ala	Gln	His	Trp	Ser	Glu	Trp	Ser	His	Pro	
225					230					235					240	
Ile	His	Trp	Gly	Ser	Asn	Ser	Ser	Lys	Glu	Asn	Pro	Phe	Leu	Phe	Ala	
				245					250					255		
Leu	Glu	Ala	Gly	Ala	Gln	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	
			260					265					270			
Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	
		275					280					285				
Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	
	290					295					300					
Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	
305					310					315					320	
Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	
				325					330					335		
Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	
			340					345					350			
Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	
	355						360					365				

482862.TXT

Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 370 375 380
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
 385 390 395 400
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
 405 410 415
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 420 425 430
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 435 440 445
 Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
 450 455 460
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 465 470 475 480
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 485

<210> 264
 <211> 1470
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cynomolgus IL-2R-gamma-Fc(ojal) proteína de fusión
 <400> 264

atgggatgga	gctgtatcat	cctcttcttg	gtagcaacag	ctaccgggtgt	gcattccctg	60
aacacgacaa	ttctgacgcc	caatgggaat	gaagacgcca	caactgattt	cttcctgacc	120
tctatgccc	ctgactccct	cagtgtttcc	actctgcccc	tcccagaggt	tcagtgtttt	180
gtgttcaatg	tcgagtacat	gaattgcact	tggaacagca	gctctgagcc	ccagcctacc	240
aacctcactc	tgcattattg	gtacaagaat	tcggataatg	ataaagtcca	gaagtgcagc	300
cactatctat	tctctgaaga	aatcacttct	ggctgtcagt	tgcaaaaaaa	ggagatccac	360
ctctaccaaa	cgtttggtgt	tcagctccag	gacccacggg	aacccaggag	acaggccaca	420
cagatgctaa	aactgcagaa	tctggtgatc	ccctgggctc	cggagaacct	aacacttcgc	480
aaactgagtg	aatcccagct	agaactgaac	tggaacaaca	gattcttgaa	ccactgtttg	540
gagcacttgg	tgcagtaccg	gactgactgg	gaccacagct	ggactgaaca	atcagtggat	600
tatagacata	agttctcctt	gcctagtgtg	gatgggcaga	aacgctacac	gtttctgtgc	660
cggagccgct	ttaaccact	ctgtggaagt	gctcagcatt	ggagtgaatg	gagccacca	720
atccactggg	ggagcaatag	ttcaaaagag	aatcctttcc	tgtttgcat	ggaagccgga	780
gctcaggaca	aaactcacac	atgcccaccg	tgcccagcac	ctgaactcct	gggggggaccg	840
tcagtcttcc	tcttcccccc	aaaacccaag	gacaccctca	tgatctccc	gacccctgag	900
gtcacatgcg	tgggtggtgga	cgtgagccac	gaagaccctg	aggtcaagtt	caactgggtac	960
gtggacggcg	tggaggtgca	taatgccaag	acaaagccgc	gggaggagca	gtacaacagc	1020
acgtaccgtg	tggtcagcgt	cctcaccgtc	ctgcaccagg	actggctgaa	tggcaaggag	1080
tacaagtgca	aggtctccaa	caaagccctc	ggcgccccca	tcgagaaaac	catctccaaa	1140
gccaaagggc	agccccgaga	accacagggtg	tgcaccctgc	ccccatcccc	ggatgagctg	1200
accaagaacc	aggtcagcct	ctcgtgcgca	gtcaaaggct	tctatcccag	cgacatcgcc	1260
gtggagtggg	agagcaatgg	gcagccggag	aacaactaca	agaccacgcc	tcccgtgctg	1320
gactccgacg	gctccttctt	cctcgtgagc	aagctcaccg	tggacaagag	caggtggcag	1380
caggggaacg	tcttctcatg	ctccgtgatg	catgaggctc	tgcacaacca	ctacacgcag	1440
aagagcctct	ccctgtctcc	gggtaaatga				1470

<210> 265
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Cynomolgus IL-2R subunidad alfa + Avi-tag + His-tag
 <400> 265

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

482862.TXT

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
65 70 80
Ala Ala Arg Asn Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
85 90 95
Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Gln Met Gln Leu Ala Asp
100 105 110
Gln Val Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
115 120 125
Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Thr Val Tyr
130 135 140
Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
145 150 155 160
Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
165 170 175
Leu Ile Cys Thr Gly Glu Val Asp Glu Gln Leu Tyr Phe Gln Gly Gly
180 185 190
Ser Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
195 200 205
Ala Arg Ala His His His His His His

<210> 266
<211> 654
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> subunidad alfa de IL-2R de Cynomolgus + Avi-tag + His-tag
<400> 266

atgggatgga	gctgtatcat	cctcttcttg	gtagcaacag	ctaccgggtga	gctctgtgac	60
gatgaccgc	caaaaatcac	acatgccaca	ttcaaagcca	tggcctacaa	ggaaggaacc	120
atgttgaact	gtgaatgcaa	gagagggttc	cgcagaataa	aaagcgggtc	accctatatg	180
ctctgtacag	gaaactctag	ccactcgccc	tgggacaacc	aatgtcaatg	cacaagctct	240
gctgctcgga	acacaacaaa	acaagtgaca	cctcaacctg	aagaacagaa	agaaagaaaa	300
accacagaaa	tgcaaagtca	aatgcagctg	gcggaccaag	tgagccttcc	aggtcactgc	360
agggaacctc	caccgtggga	aaatgaagcc	acagaaagaa	tttatcattt	cgtggtgggg	420
cagacggttt	actaccagt	cgctccaggga	tacagggctc	tacacagagg	tcctgctgag	480
agcgtctgca	aaatgaccca	cggggaagaca	agatggaccc	agccccagct	catatgcaca	540
ggtgaagtcg	acgaacagtt	atatttttcag	ggcggctcag	gcctgaacga	catcttcgag	600
gccagaaga	tcgagtggca	cgaggctcga	gctcaccacc	atcaccatca	ctga	654

<210> 267
<211> 474
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> fusión IL-10R1-Fc humana + Avi-tag
<400> 267

His Gly Thr Glu Leu Pro Ser Pro Pro Ser Val Trp Phe Glu Ala Glu
1 5 10 15
Phe Phe His His Ile Leu His Trp Thr Pro Ile Pro Asn Gln Ser Glu
20 25 30
Ser Thr Cys Tyr Glu Val Ala Leu Arg Tyr Gly Ile Glu Ser Trp
35 40 45
Asn Ser Ile Ser Asn Cys Ser Gln Thr Leu Ser Tyr Asp Leu Thr Ala
50 55 60
Val Thr Leu Asp Leu Tyr His Ser Asn Gly Tyr Arg Ala Arg Val Arg
65 70 75 80
Ala Val Asp Gly Ser Arg His Ser Asn Trp Thr Val Thr Asn Thr Arg
85 90 95
Phe Ser Val Asp Glu Val Thr Leu Thr Val Gly Ser Val Asn Leu Glu
100 105 110
Ile His Asn Gly Phe Ile Leu Gly Lys Ile Gln Leu Pro Arg Pro Lys
115 120 125
Met Ala Pro Ala Asn Asp Thr Tyr Glu Ser Ile Phe Ser His Phe Arg
130 135 140

482862.TXT

Glu Tyr Glu Ile Ala Ile Arg Lys Val Pro Gly Asn Phe Thr Phe Thr
 145 150 155 160
 His Lys Lys Val Lys His Glu Asn Phe Ser Leu Leu Thr Ser Gly Glu
 165 170 175
 Val Gly Glu Phe Cys Val Gln Val Lys Pro Ser Val Ala Ser Arg Ser
 180 185 190
 Asn Lys Gly Met Trp Ser Lys Glu Glu Cys Ile Ser Leu Thr Arg Gln
 195 200 205
 Tyr Phe Thr Val Thr Asn Val Asp Glu Gln Leu Tyr Phe Gln Gly Gly
 210 215 220
 Ser Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 225 230 235 240
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 245 250 255
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 260 265 270
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 275 280 285
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 290 295 300
 Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 305 310 315 320
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 325 330 335
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 340 345 350
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 355 360 365
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 370 375 380
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 385 390 395 400
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 405 410 415
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 420 425 430
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 435 440 445
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Ser Gly Gly Leu Asn Asp Ile
 450 455 460
 Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
 465 470

<210> 268

<211> 1422

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> fusión IL-10R1-Fc humana + Avi-tag

<400> 268

catgggacag	agctgcccag	ccctccgtct	gtgtgggttg	aagcagaatt	tttccaccac	60
atcctccact	ggacacccat	cccaaatacag	tctgaaagta	cctgctatga	agtggcactc	120
ctgaggtatg	gaatagagtc	ctggaactcc	atctccaact	gtagccagac	cctgtcctat	180
gaccttaccg	cagtgaacct	ggacctgtac	cacagcaatg	gctaccgggc	cagagtgcgg	240
gctgtggacg	gcagccggca	ctccaactgg	accgtcacca	acacccgctt	ctctgtggat	300
gaagtgactc	tgacagttgg	cagtgtgaac	ctagagatcc	acaatggctt	catcctcggg	360
aagattcagc	tacccaggcc	caagatggcc	cccgcataatg	acacatatga	aagcatcttc	420
agtcacttcc	gagagtatga	gattgccatt	cgcaagggtgc	cgggaaaactt	cacgttcaca	480
cacaagaaag	taaaacatga	aaacttcagc	ctcctaacct	ctggagaagt	gggagagttc	540
tgtgtccagg	tgaaaccatc	tgtcgcttcc	cgaagtaaca	aggggatgtg	gtctaaagag	600
gagtgcattc	ccctcaccag	gcagtatttc	accgtgacca	acgtcgacga	acagttatat	660
tttcaggggc	gctcacccaa	atctgcagac	aaaactcaca	catgcccacc	gtgcccagca	720
cctgaactcc	tgggggggacc	gtcagtcctt	ctcttccccc	caaaacccaa	ggacaccctc	780
atgatctccc	ggaccccctga	ggtcacatgc	gtggtggtgg	acgtgagcca	cgaagaccct	840

482862.TXT

```

gagggtcaagt tcaactggta cgtggacggc gtggaggtgc ataatgcca gacaaagccg 900
cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag 960
gactggctga atggcaagga gtacaagtgc aagggtctcca acaaagccct cccagcccc 1020
atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg 1080
ccccatccc gggtgagct gaccaagaac caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc 1140
ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac 1200
aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac ggctccttct tcctctacag caagctcacc 1260
gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct 1320
ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc tccctgtctc cgggtggcgg gtccggaggc 1380
ctgaacgaca tcttcgaggc ccagaagatt gaatggcacg ag 1422

```

<210> 269

<211> 593

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 28H1 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm (2)

<400> 269

```

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 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
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

```

482862.TXT

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
 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> 270

<211> 1779

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 28H1 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm (2)

<400> 270

gaagtgcagc	tgctggaatc	cggcggaggc	ctggtgcagc	ctggcggatc	tctgagactg	60
tcctgcgccc	cctccggctt	caccttctcc	tcccacgcca	tgtcctgggt	ccgacaggct	120
cctggcaaag	gcctggaatg	ggtgtccgcc	atctgggcct	ccggcggagc	gtactacgcc	180
gactctgtga	agggccggtt	caccatctcc	cgggacaact	ccaagaacac	cctgtacctg	240
cagatgaact	ccctgcgggc	cgaggacacc	gccgtgtact	actgtgccaa	gggctggctg	300
ggcaacttcg	actactgggg	acagggcacc	ctggtcaccg	tgtccagcgc	tagcaccaag	360
ggcccacgcg	tcttccccct	ggcaccctcc	tccaagagca	cctctggggg	cacagcggcc	420
ctggggctgcc	tggtcaagga	ctacttcccc	gaaccgggtg	cggtgtcgtg	gaactcaggc	480
gccctgacca	gcggcgtgca	caccttcccc	gctgtcctac	agtcctcagg	actctactcc	540
ctcagcagcg	tggtgaccgt	gccctccagc	agcttgggca	cccagacctc	catctgcaac	600
gtgaatcaca	agcccagcaa	caccaagggt	gacaagaaag	ttgagcccaa	atcttgtgac	660
aaaactcaca	catgcccacc	gtgcccagca	cctgaagctg	cagggggacc	gtcagtcctc	720
ctcttcccc	caaaaaccaa	ggacaccctc	atgatctccc	ggacccctga	ggtcacatgc	780
gtggtggtgg	acgtgagcca	cgaagaccct	gagggtcaagt	tcaactggta	cgtggacggc	840
gtggagggtg	ataatgccaa	gacaaagccg	cgaggaggag	agtacaacag	cacgtaccgt	900
gtggtcagcg	tcctcaccgt	cctgcaccag	gactggctga	atggcaagga	gtacaagtgc	960
aagggtctcca	acaaaagccct	cggcgcccc	atcgagaaaa	ccatctccaa	agccaaaggg	1020
cagccccgag	aaccacaggt	gtacaccctg	cccccatgcc	gggatgagct	gaccaagaac	1080
caggtcagcc	tgtggtgcct	ggtcaaaggc	ttctatccca	gcgacatcgc	cgtggagtgg	1140
gagagcaatg	ggcagccgga	gaacaactac	aagaccacgc	ctcccgtgct	ggactccgac	1200
ggctccttct	tcctctacag	caagctcacc	gtggacaaga	gcagggtggc	gcaggggaac	1260
gtcttctcat	gctccgtgat	gcatgaggct	ctgcacaacc	actacacgca	gaagagcctc	1320
tcctgtcttc	cgggtggcgg	cggaggctcc	ggaggcggag	gttctggcgg	aggtggctcc	1380
gcacctgcct	caagttctac	aaagaaaaca	cagctacaac	tggagcattt	actgctggat	1440
ttacagatga	ttttgaatgg	aattaataat	tacaagaatc	ccaaactcac	caggatgctc	1500
acagccaagt	ttgccatgcc	caagaaggcc	acagaactga	aacatcttca	gtgtctagaa	1560

482862.TXT

```

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 1620
agaccagagg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 1680
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 1740
tggtattacct ttgccccaaag catcatctca acactgact 1779

```

<210> 271

<211> 594

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 4B9 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm (2)

<400> 271

```

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

```

482862.TXT

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 Pro Gly Gly Gly
 435 440 445
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala
 450 455 460
 Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu
 465 470 475 480
 Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys
 485 490 495
 Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr
 500 505 510
 Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu
 515 520 525
 Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg
 530 535 540
 Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser
 545 550 555 560
 Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val
 565 570 575
 Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr
 580 585 590
 Leu Thr

<210> 272
 <211> 1782
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 4B9 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm (2)
 <400> 272

gaggtgcagc	tgctcgaaag	cggcggaggga	ctggtgcagc	ctggcggcag	cctgagactg	60
tcttgcgccg	ccagcggctt	caccttcagc	agctacgcca	tgagctgggt	ccgccaggcc	120
cctggcaagg	gactggaatg	ggtgtccgcc	atcatcggct	ctggcggccag	cacctactac	180
gccgacagcg	tgaaggcccg	gttcaccatc	agccgggaca	acagcaagaa	caccctgtac	240
ctgcagatga	acagcctgcg	ggccgaggac	accgccgtgt	actactgcmc	caagggatgg	300
ttcggcggct	tcaactactg	gggacagggc	accctgggtc	cagtgtccag	cgctagcacc	360
aagggcccat	cggtcttccc	cctggcaccc	tccctccaaga	gcacctctgg	gggcacagcg	420
gccctgggct	gcctgggtcaa	ggactacttc	cccgaaccgg	tgacgggtgtc	gtggaactca	480
ggcgccctga	ccagcggcgt	gcacaccttc	ccggctgtcc	tacagtcctc	aggactctac	540
tccctcagca	gcgtggtgac	cgtgccctcc	agcagcttgg	gcacccagac	ctacatctgc	600
aacgtgaatc	acaagcccag	caacaccaag	gtggacaaga	aagttgagcc	caaatcttgt	660
gacaaaaactc	acacatgccc	accgtgcccc	gcacctgaag	ctgcaggggg	accgtcagtc	720
ttcctcttcc	ccccaaaacc	caaggacacc	ctcatgatct	cccggacccc	tgaggtcaca	780
tgctgtggtg	tggacgtgag	ccacgaagac	cctgagggtca	agttcaactg	gtacgtggac	840
ggcgtggagg	tgcataatgc	caagacaaag	ccgcgggagg	agcagtacaa	cagcacgtac	900
cgtgtggtca	gcgtcctcac	cgctcctgcac	caggactggc	tgaatggcaa	ggagtacaag	960
tgcaaggctc	ccaacaaagc	cctcggcgcc	cccacgcaga	aaaccatctc	caaagccaaa	1020
gggcagcccc	gagaaccaca	ggtgtacacc	ctgccccatc	gccgggatga	gctgaccaag	1080
aaccagggtca	gcctgtggcg	cctgggtcaaa	ggcttctatc	ccagcgacat	cgccgtggag	1140
tgggagagca	atgggcagcc	ggagaacaac	tacaagacca	cgccctcccg	gctggactcc	1200
gacggctcct	tcttctctta	cagcaagctc	accgtggaca	agagcagggtg	gcagcagggg	1260
aacgtcttct	catgctccgt	gatgcatgag	gctctgcaca	accactacac	gcagaagagc	1320
ctctccctgt	ctccgggttg	cggcggaggc	tccggaggcg	gaggttcttg	cggagggtggc	1380
tccgcacctg	cctcaagttc	tacaaagaaa	acacagctac	aactggagca	tttactgctg	1440
gatttacaga	tgattttgaa	tggaaattaat	aattacaaga	atcccaaaact	caccaggatg	1500
ctcacagcca	agtttgccat	gcccagaag	gccacagaac	tgaacatctc	tcagtgtcta	1560
gaagaagaac	tcaaacctct	ggaggaagtg	ctaaatggcg	ctcaaagcaa	aaactttcac	1620
ttaagaccca	gggacttaat	cagcaatatc	aacgtaatat	ttctggaact	aaagggatct	1680
gaaacaacat	tcatgtgtga	atatgctgat	gagacagcaa	ccattgtaga	atttctgaac	1740
agatggatta	cctttgcccc	aagcatcatc	tcaacactga	ct		1782

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 4B9 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 wt

<400> 273

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 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
 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 Thr
 450 455 460

482862.TXT

Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu
 465 470 475 480
 Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys
 485 490 495
 Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr 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 Leu 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> 274
 <211> 1782
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 4B9 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 wt
 <400> 274
 gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60
 tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120
 cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcggccag cacctactac 180
 gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240
 ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcmc caagggatgg 300
 ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctgggtca cagtgtccag cgctagcacc 360
 aaggggccat cggtcttccc cctggcacc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420
 gccctgggct gctgtgtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca 480
 ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac 540
 tccctcagca gcgtggtgac cgtgcccttc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600
 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 660
 gacaaaaact acacatgccc accgtgcccc gcacctgaag ctgcaggggg accgtcagtc 720
 ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 780
 tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 840
 ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 900
 cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 960
 tgcaaggctc ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat gccgggatga gctgaccaag 1080
 aaccaggtca gcctgtggtg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200
 gacggctcct tcttctctca cagcaagctc accgtggaca agagcagggt gcagcagggg 1260
 aacgtcttct catgtccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320
 ctctccctgt ctccgggtgg cggcggaggc tccggaggcg gaggttctgg aggcggaggc 1380
 tccgcaccta cttcaagttc tacaaagaaa acacagctac aactggagca tttactgctg 1440
 gatttacaga tgattttgaa tggaattaat aattacaaga atcccaaact caccaggatg 1500
 ctcacattta agttttcat gcccaagaag gccacagaac tgaaacatct tcagtgtcta 1560
 gaagaagaac tcaaacctct ggaggaagt ctaaatttag ctcaaagcaa aaactttcac 1620
 ttaagaccca gggacttaat cagcaatatc aacgtaatag ttctggaact aaagggatct 1680
 gaaacaacat tcatgtgtga atatgctgat gagacagcaa ccattgtaga atttctgaac 1740
 agatggatta cctttgccca aagcatcatc tcaacactga ct 1782
 <210> 275
 <211> 599
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> CH1A1A 98/99 2F1 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm
 <400> 275
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

482862.TXT

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

482862.TXT

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> 276

<211> 1797

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> CH1A1A 98/99 2F1 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm

<400> 276

caggtgcagc	tggtgcagtc	tggcgccgaa	gtgaagaaac	ctggagctag	tgtgaagggtg	60
tcctgcaagg	ccagcggcta	caccttcacc	gagttcggca	tgaactgggt	ccgacaggct	120
ccaggccagg	gcctcgaatg	gatgggctgg	atcaacacca	agaccggcga	ggccacctac	180
gtggaagagt	tcaagggcag	agtgccttc	accacggaca	ccagcaccag	caccgcctac	240
atggaactgc	ggagcctgag	aagcgacgac	accgccgtgt	actactgcmc	cagatggggac	300
ttcgctatt	acgtggaagc	catggactac	tggggccagg	gcaccaccgt	gaccgtgtct	360
agcgctagca	ccaagggccc	aagcgtgttc	cctctggccc	ccagcagcaa	gagcacaagc	420
ggcggaacag	ccgccctggg	ctgcctggtc	aaggactact	tccccgagcc	cgtgacagtg	480
tcctggaaca	gcgagagcct	gaccagcggc	gtgcacacct	ttccagccgt	gctgcagagc	540
agcggcctgt	acagcctgag	cagcgtggtc	acagtgccta	gcagcagcct	gggcacccag	600
acctacatct	gcaacgtgaa	ccacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	gaagggtggag	660
cccaagagct	gcgacaagac	ccacacctgt	cccccttgtc	ctgcccctga	gctgctgggc	720
ggaccagcg	tgctcctgtt	ccccccaaag	cccaaggaca	ccctgatgat	cagccggacc	780
cccgaagtga	cctgcgtggt	ggtggacgtg	tcccacgagg	accctgaagt	gaagttcaat	840
tggtacgtgg	acggcgtgga	ggtgcacaat	gccaagacca	agccccggga	ggaacagtac	900
aacagcacct	accgggtggt	gtccgtgctg	accgtgctgc	accaggactg	gctgaacggc	960
aaagagtaca	agtgcaagggt	ctccaacaag	gccctgcctg	cccccatcga	gaaaaccatc	1020
agcaaggcca	agggccagcc	cagagaaccc	caggtgtaca	ccctgcccc	ctgcagagat	1080
gagctgacca	agaaccagggt	gtcccctgtg	tgctctggtca	agggcttcta	ccccagcgat	1140
atcgccgtgg	agtgggagag	caacggccag	cctgagaaca	actacaagac	cacccccctt	1200
gtgctggaca	gcgacggcag	cttcttcctg	tactccaaac	tgaccgtgga	caagagccgg	1260
tggcagcagg	gcaacgtgtt	cagctgcagc	gtgatgcacg	aggccctgca	caaccactac	1320
acccagaagt	ccctgagcct	gagccccggc	aagtccggag	gcggagggtc	cggcggcgga	1380
ggttctggcg	gaggtggcgc	tcctgcctcc	tccagcacca	agaaaaccca	gctccagctg	1440
gaacatctcc	tgctggatct	gcagatgatt	ctgaacggca	tcaacaacta	caagaacccc	1500
aagctgaccc	ggatgctgac	cgccaagttc	gccatgcccc	agaaggccac	cgagctgaaa	1560
catctgcagt	gcctggaaga	ggaactgaag	cctctggaag	aggtgctgaa	cggcgcccag	1620
tccaagaact	tccacctgag	gcctcgggac	ctgatctcca	acatcaacgt	gatcgtgctg	1680
gaactgaagg	gctccgagac	aaccttcatt	tgcgagtacg	ccgacgagac	agctaccatc	1740
gtggaatttc	tgaaccggtg	gatcaccttc	gcccagtcca	tcattctccac	cctgacc	1797

<210> 277

<211> 598

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> CH1A1A 98/99 2F1 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm (2)

<400> 277

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

482862.TXT

50	Lys	Gly	Arg	Val	Thr	55	Phe	Thr	Thr	Asp	Thr	60	Ser	Thr	Ala	Tyr
65	Met	Glu	Leu	Arg	Ser	70	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	75	Thr	Ala	Val	Tyr
					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
							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
							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
							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	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly
						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
							535					540				
	Leu	Arg	Pro	Arg	Asp	Leu	Ile	Ser	Asn	Ile	Asn	Val	Ile	Val	Leu	Glu
545					550						555					560

482862.TXT

Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
 565 570 575
 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> 278

<211> 1794

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> CH1A1A 98/99 2F1 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm (2)

<400> 278

caggtgcagc	tgggtgcagtc	tggcgccgaa	gtgaagaaac	ctggagctag	tgtgaagggtg	60
tcctgcaagg	ccagcggcta	caccttcacc	gagttcggca	tgaactgggt	ccgacaggct	120
ccaggccagg	gcctcgaatg	gatgggctgg	atcaacacca	agaccggcga	ggccacctac	180
gtggaagagt	tcaagggcag	agtgccttc	accacggaca	ccagcaccag	caccgcctac	240
atggaactgc	ggagcctgag	aagcgacgac	accgccgtgt	actactgcg	cagatgggac	300
ttcgctatt	acgtggaagc	catggactac	tggggccagg	gcaccaccgt	gaccgtgtct	360
agcgctagca	ccaaggggccc	atcggtcttc	cccctggcac	cctcctccaa	gagcacctct	420
gggggcacag	cggccctggg	ctgcctggtc	aaggactact	tccccgaacc	ggtgacgggtg	480
tcgtggaact	caggcgccct	gaccagcggc	gtgcacacct	tcccggctgt	cctacagtcc	540
tcaggactct	actccctcag	cagcgtgggtg	accgtgccct	ccagcagctt	gggcacccag	600
acctacatct	gcaacgtgaa	tcacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	gaaagttgag	660
cccaaattctt	gtgacaaaac	tcacacatgc	ccaccgtgcc	cagcacctga	agctgcaggg	720
ggaccgtcag	tcttcctctt	ccccccaaaa	cccaaggaca	ccctcatgat	ctcccggacc	780
cctgagggtca	catgctgtgt	ggtggacgtg	agccacgaag	accctgaggt	caagttcaac	840
tggtagctgg	acggcgtgga	ggtgcataat	gccaagacaa	agccgcggga	ggagcagtag	900
aacagcacgt	accgtgtggt	cagcgtcctc	accgtcctgc	accaggactg	gctgaatggc	960
aaggagtaga	agtgcaaggt	ctccaacaaa	gccctcggcg	ccccatcga	gaaaaccatc	1020
tccaaagcca	aagggcagcc	ccgagaacca	caggtgtaca	ccctgcccc	atgccgggat	1080
gagctgacca	agaaccaggt	cagcctgtgg	tgcctgggtca	aaggcttcta	tcccagcgac	1140
atcgccgtgg	agtgggagag	caatgggcag	ccggagaaca	actacaagac	cacgcctccc	1200
gtgctggact	ccgacggctc	cttcttcctc	tacagcaagc	tcaccgtgga	caagagcagg	1260
tggcagcagg	ggaacgtctt	ctcatgctcc	gtgatgcatg	aggctctgca	caaccactac	1320
acgcagaaga	gcctctccct	gtctccgggt	ggcggcggag	gctccggagg	cggagggttct	1380
ggcggagggtg	gctccgcacc	tgctcaagt	tctacaaaga	aaacacagct	acaactggag	1440
catttactgc	tggattitaca	gatgattttg	aatggaatta	ataattacaa	gaatcccaaa	1500
ctcaccagga	tgctcacagc	caagtttgcc	atgcccaga	aggccacaga	actgaaacat	1560
cttcagtgtc	tagaagaaga	actcaaacct	ctggaggaag	tgctaaatgg	cgctcaaagc	1620
aaaaactttc	acttaagacc	cagggactta	atcagcaata	tcaacgtaat	agttctggaa	1680
ctaaagggat	ctgaaacaac	attcatgtgt	gaatatgctg	atgagacagc	aaccattgta	1740
gaatttctga	acagatggat	tacctttgcc	caaagcatca	tctcaacact	gact	1794

<210> 279

<211> 598

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> CH1A1A 98/99 2F1 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 wt

<400> 279

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				

482862.TXT

			100				105				110			
Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	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
	130					135					140			
Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr
145				150					155					160
Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro
			165					170						175
Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr
		180					185					190		
Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn
	195					200					205			His
Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser
	210				215						220			Cys
Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala
225				230					235					Gly
Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu
			245					250						Met
Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	
		260					265					270		His
Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu
	275					280					285			Val
His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr
	290				295				300					Tyr
Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn
305				310					315					Gly
Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro
			325					330					335	Ile
Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln
		340					345					350		Val
Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Cys	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val
	355					360						365		Ser
Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val
	370				375				380					Glu
Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro
385				390					395					Pro
Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr
			405					410					415	Val
Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val
		420					425					430		Met
His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu
	435				440						445			Ser
Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly
	450				455						460			
Ser	Ala	Pro	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Lys	Lys	Thr	Gln	Leu	Gln	Leu
465				470					475					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	Phe	Lys	Phe	Tyr	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	Leu	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					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> 280
<211> 1794
<212> DNA
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> CH1A1A 98/99 2F1 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 wt
<400> 280
caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggagctag tgtgaagggtg      60
tcctgcaagg ccagcgggcta cacccttcacc gagttcggca tgaactgggt ccgacagggt      120
ccaggccagg gcctcgaatg gatgggctgg atcaacacca agaccggcga ggccacctac      180
gtggaagagt tcaagggcag agtgaccttc accacggaca ccagcaccag caccgcctac      240
atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagatggggac      300
ttcgctattt acgtggaagc catggactac tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgtct      360
agcgctagca ccaagggtccc atcggctctt cccctggcac cctcctccaa gagcacctct      420
gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacgggtg      480
tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggtgt cctacagtcc      540
tcaggactct actccctcag cagcgtgggt accgtgccct ccagcagctt gggcaccag      600
acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagttgag      660
cccaaattct gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga agctgcaggg      720
ggaccgtcag tcttcctctt cccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc      780
cctgagggtca catgcgtggg ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac      840
tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtag      900
aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc      960
aaggagtaca agtgcaagggt ctccaacaaa gccctcggcg ccccatcga gaaaaccatc     1020
tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccctgcccc atgccgggat     1080
gagctgacca agaaccaggt cagcctgtgg tgcctgggtc aaggcttcta tcccagcgac     1140
atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cagcctccc     1200
gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg     1260
tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac     1320
acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt ggcggcggag gtcgggagg cggagggttct     1380
ggaggcggag gctccgcacc tacttcaagt tctacaaaga aaacacagct acaactggag     1440
catttactgc tggatttaca gatgattttg aatggaatta ataattacaa gaatcccaaa     1500
ctaccaggga tgctcacatt taagttttac atgcccaga aggccacaga actgaaacat     1560
cttcagtgtc tagaagaaga actcaaacct ctggaggaag tgctaaattt agctcaaagc     1620
aaaaactttc acttaagacc cagggactta atcagcaata tcaacgtaat agttctggaa     1680
ctaaagggat ctgaaacaac attcatgtgt gaatatgctg atgagacagc aaccattgta     1740
gaatttctga acagatggat tacctttgcc caaagcatca tctcaacact gact          1794
<210> 281
<211> 451
<212> PRT
<213> Secuencia artificial
<220>
<223> CH1A1A 98/99 2F1 Fab HC-Fc ojal (LALA P329G)
<400> 281
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 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 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

```

[illegible]

<210>	282
<211>	1353
<212>	DNA
<213>	Secuencia artificial
<220>	
<223>	CH1A1A 98/99 2F1 Fab HC-Fc ojal (LALA P329G)
<400>	282

cagggtgcagc	tggtgcagtc	tggcgccgaa	gtgaagaaac	ctggagctag	tgtgaaggtg	60
tcctgcaagg	ccagcggcta	caccttcacc	gagttcggca	tgaactgggt	ccgacaggct	120
ccaggccagg	gcctcgaatg	gatgggctgg	atcaacacca	agaccggcga	ggccacctac	180
gtggaagagt	tcaagggcag	agtgcacctc	accacggaca	ccagcaccag	caccgcctac	240
atggaactgc	ggagcctgag	aagcgacgac	accgcgtgtg	actactgcgc	catagtggag	300
ttcgctattt	acgtggaagc	catggactac	tggggccagg	gcaccaccgt	gaccgtgtct	360
agcgctagca	ccaagggccc	ctccgtgttc	cccctggccc	ccagcagcaa	gagcaccagc	420
ggcggcacag	ccgctctggg	ctgcctggtc	aaggactact	tccccgagcc	cgtgaccgtg	480
tcctggaaca	gcggagccct	gacctccggc	gtgcacacct	tccccgcgct	gctgcagagt	540
tctggcctgt	atagcctgag	cagcgtggtc	accgtgcctt	ctagcagcct	gggacccag	600
acctacatct	gcaacgtgaa	ccacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	gaaggtggag	660
cccaagagct	gcgacaaaac	tcacacatgc	ccaccgtgcc	cagcacctga	agctgcaggg	720
ggaccgtcag	tcttcctctt	ccccccaaaa	cccaaggaca	ccctcatgat	ctcccggaac	780
cctgaggtca	catgcgtggt	ggtggacgtg	agccacgaag	accctgaggt	caagttcaac	840
tggtacgtgg	acggcgtgga	ggtgcataat	gccaagacaa	agccgcggga	ggagcagtac	900
aacagcacgt	accgctgtgt	cagcgtccct	accgtctgc	accaggactg	gctgaattggc	960
aaggagtaca	agtgcgaagt	ctccaacaaa	gccctcggcg	cccccatcga	gaaaaccatc	1020

482862.TXT

tccaaagcca	aagggcagcc	ccgagaacca	caggtgtgca	ccctgcccc	atcccgggat	1080
gagctgacca	agaaccaggt	cagcctctcg	tgcgcagtca	aaggcttcta	tcccagcgac	1140
atcgccgtgg	agtgggagag	caatgggcag	ccggagaaca	actacaagac	cacgcctccc	1200
gtgctggact	ccgacggctc	cttcttcctc	gtgagcaagc	tcaccgtgga	caagagcagg	1260
tggcagcagg	ggaacgtctt	ctcatgctcc	gtgatgcatg	aggctctgca	caaccactac	1320
acgcagaaga	gcctctccct	gtctccgggt	aaa			1353

<210> 283

<211> 215

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> CH1A1A 98/99 2F1 Fab LC

<400> 283

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				
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> 284

<211> 645

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> CH1A1A 98/99 2F1 Fab LC

<400> 284

gatatccaga	tgaccagtc	tccatcctcc	ctgtctgcat	ctgtgggaga	cagagtcacc	60
atcacttgca	aggccagtc	ggctgtgggt	acgtatgttg	cggtggatca	gcagaaacca	120
gggaaagcac	ctaagctcct	gatctattcg	gcacccctacc	gcaaaagggg	agtcccatca	180
aggttcagtg	gcagtggatc	tgggacagat	ttcactctca	ccatcagcag	tctgcaacct	240
gaagatttcg	caacttacta	ctgtcaccaa	tattacacct	atcctctatt	cacgtttggc	300
cagggcacca	agctcgagat	caagcgtacg	gtggctgcac	catctgtctt	catcttcccg	360
ccatctgatg	agcagttgaa	atctggaact	gcctctgttg	tgtgcctgct	gaataacttc	420
tatcccagag	aggccaaaag	acagtggaaag	gtggataacg	ccctccaatc	gggtaactcc	480
caggagagtg	tcacagagca	ggacagcaag	gacagcacct	acagcctcag	cagcaccctg	540
acgctgagca	aagcagacta	cgagaaacac	aaagtctacg	cctgcgaagt	cacccatcag	600
ggcctgagct	cgcccgtcac	aaagagcttc	aacaggggag	agtgt		645

<210> 285

<211> 598

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

482862.TXT

<220>

<223> 2B10 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm

<400> 285

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 115 120 125
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
 130 135 140
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
 145 150 155 160
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
 165 170 175
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
 180 185 190
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
 195 200 205
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 210 215 220
 Asp 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 Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
 465 470 475 480

482862.TXT

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
 Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
 565 570 575
 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> 286
 <211> 1794
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 2B10 Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm
 <400> 286

caggtgcaat	tgggtgcagtc	tggggctgag	gtgaagaagc	ctgggtcctc	ggtgaaggtc	60
tcctgcaagg	cctccggagg	cacattcagc	agctacgcta	taagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggctcgagtg	gatgggaggg	atcatcccta	tctttggtag	agcaaaactac	180
gcacagaagt	tccagggcag	ggtcaccatt	actgcagaca	aatccacgag	cacagcctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	accgccgtgt	attactgtgc	gagactgtac	300
ggttacgctt	actacgggtg	ttttgactac	tggggccaag	ggaccaccgt	gaccgtctcc	360
tcagctagca	ccaaggggccc	atcgggtctt	cccctggcac	cctcctccaa	gagcacctct	420
gggggacacg	cggccctggg	ctgcctggtc	aaggactact	tccccgaacc	ggtgacgggtg	480
tcgtggaact	caggcgccct	gaccagcggc	gtgcacacct	tcccggctgt	cctacagtcc	540
tcaggactct	actccctcag	cagcgtgggtg	accgtgccct	ccagcagctt	gggcaccctag	600
acctacatct	gcaacgtgaa	tcacaagccc	agcaaacacca	aggtggacaa	gaaagttgag	660
cccaaattct	gtgacaaaac	tcacacatgc	ccaccgtgcc	cagcacctga	agctgcaggg	720
ggaccgtcag	tcttcctctt	ccccccaaaa	cccaaggaca	ccctcatgat	ctcccgacc	780
cctgagggtca	catgcgtggg	ggtggacgtg	agccacgaag	accctgagg	caagttcaac	840
tggtagctgg	acggcggtgga	ggtgcataat	gccaagacaa	agccgcggga	ggagcagtag	900
aacagcacgt	accgtgtggg	cagcgtcctc	accgtcctgc	accaggactg	gctgaatggc	960
aaggagtaca	agtgcgaagg	ctccaacaaa	gccctcggcg	cccccatcga	gaaaaccatc	1020
tccaaagcca	aagggcagcc	ccgagaacca	caggtgtaca	cctgcccccc	atgccgggat	1080
gagctgacca	agaaccagg	cagcctgtgg	tgcctgggtca	aaggcttcta	tcccagcgac	1140
atcgccgtgg	agtgggagag	caatgggcag	ccggagaaca	actacaagac	cacgcctccc	1200
tggctggagt	ccgacggctc	cttcttcctc	tacagcaagc	tcaccgtgga	caagagcagg	1260
tggcagcagg	ggaacgtctt	ctcatgctcc	gtgatgcatg	aggctctgca	caaccactac	1320
acgcagaaga	gcctctccct	gtctccgggt	ggcggcggag	gctccggagg	cggagggttct	1380
ggcggagggtg	gctccgcacc	tgcttcaagt	tctacaaaga	aaacacagct	acaactggag	1440
catttactgc	tggattttaca	gatgattttg	aatggaatta	ataattacaa	gaatccccaaa	1500
ctcaccagga	tgctcacagc	caagtttgcc	atgcccaaga	aggccacaga	actgaaacat	1560
cttcagtgtc	tagaagaaga	actcaaacct	ctggagggaag	tgctaaatgg	cgctcaaagc	1620
aaaaactttc	acttaagacc	cagggactta	atcaggaata	tcaacgtaat	agttctggaa	1680
ctaaagggat	ctgaaacaac	attcatgtgt	gaatatgctg	atgagacagc	aaccattgta	1740
gaattttctga	acagatggat	tacctttgcc	caaagcatca	tctcaacact	gact	1794

<210> 287
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> 2B10 Fab HC-Fc ojal (LALA P329G)
 <400> 287

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

482862.TXT

Ala	Ile	Ser	20	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	25	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	30	Glu	Trp	Met
Gly	Gly	Ile	35	Ile	Pro	Ile	Phe	Gly	40	Thr	Ala	Asn	Tyr	Ala	45	Gln	Lys	Phe
Gln	Gly	Arg	50	Val	Thr	Ile	Thr	Ala	55	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	60	Thr	Ala	Tyr
65	Met	Glu	Leu	Ser	85	Ser	Leu	Arg	70	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	75	Val	Tyr	80
Ala	Arg	Leu	Tyr	Gly	Tyr	Ala	Tyr	Tyr	90	Gly	Ala	Phe	Asp	Tyr	95	Trp	Gly	
Gln	Gly	Thr	100	Thr	Val	Thr	Val	Ser	105	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	110	Gly	Pro	Ser
Val	Phe	Pro	115	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	120	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	125	Gly	Thr	Ala
Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	135	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	140	Thr	Val	
145	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	150	Ser	Gly	Val	His	Thr	155	Phe	Pro	160
Val	Leu	Gln	Ser	165	Ser	Gly	Leu	Tyr	170	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	175	Val	Thr	Val
Pro	Ser	Ser	Ser	180	Leu	Gly	Thr	Gln	185	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	190	Val	Asn	His
Lys	Pro	Ser	Asn	195	Thr	Lys	Val	Asp	200	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	205	Lys	Ser	Cys
Asp	Lys	Thr	His	210	Thr	Cys	Pro	Pro	215	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	220	Ala	Ala	Gly
225	Gly	Pro	Ser	230	Val	Phe	Leu	Phe	235	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	240	Asp	Thr	Leu
Ile	Ser	Arg	Thr	245	Pro	Glu	Val	Thr	250	Cys	Val	Val	Val	Asp	255	Val	Ser	His
Glu	Asp	Pro	Glu	260	Val	Lys	Phe	Asn	265	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	270	Val	Glu	Val
His	Asn	Ala	Lys	275	Thr	Lys	Pro	Arg	280	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	285	Ser	Thr	Tyr
Arg	Val	Val	Ser	290	Val	Leu	Thr	Val	295	Leu	His	Gln	Asp	Trp	300	Leu	Asn	Gly
305	Lys	Glu	Tyr	Lys	310	Cys	Lys	Val	315	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	320	Gly	Ala	Pro
Glu	Lys	Thr	Ile	325	Ser	Lys	Ala	Lys	330	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	335	Pro	Gln	Val
Cys	Thr	Leu	Pro	340	Pro	Ser	Arg	Asp	345	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	350	Gln	Val	Ser
Leu	Ser	Cys	Ala	355	Val	Lys	Gly	Phe	360	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	365	Ala	Val	Glu
Trp	Glu	Ser	Asn	370	Gly	Gln	Pro	Glu	375	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	380	Thr	Pro	Pro
385	Val	Leu	Asp	Ser	390	Asp	Gly	Ser	395	Phe	Phe	Leu	Val	Ser	400	Lys	Leu	Thr
Asp	Lys	Ser	Arg	405	Trp	Gln	Gln	Gly	410	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	415	Val	Met	
His	Glu	Ala	Leu	420	His	Asn	His	Tyr	425	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	430	Ser	Leu	Ser
Pro	Gly	Lys		435				440						445				

<210> 288

<211> 1353

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2B10 Fab HC-Fc ojal (LALA P329G)

<400> 288

caggtgcaat tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc

60

482862.TXT

tcctgcaagg	cctccggagg	cacattcagc	agctacgcta	taagctgggt	gcgacaggcc	120
cctggacaag	ggctcgagtg	gatgggaggg	atcatcccta	tctttgtgtac	agcaaactac	180
gcacagaagt	tccagggcag	ggtcaccatt	actgcagaca	aatccacgag	cacagcctac	240
atggagctga	gcagcctgag	atctgaggac	accgccgtgt	attactgtgc	gagactgtac	300
ggttacgctt	actacggtgc	ttttgactac	tggggccaag	ggaccaccgt	gaccgtctcc	360
tcagctagca	ccaagggccc	ctccgtgttc	cccctggccc	ccagcagcaa	gagcaccagc	420
ggcggcacag	ccgctctggg	ctgcctggtc	aaggactact	tccccgagcc	cgtgaccgtg	480
tcctggaaca	gcggagccct	gacctccggc	gtgcacacct	tccccgccgt	gctgcagagt	540
tctggcctgt	atagcctgag	cagcgtggtc	accgtgcctt	ctagcagcct	gggcaccag	600
acctacatct	gcaacgtgaa	ccacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	gaaggtggag	660
cccaagagct	gcgacaaaac	tcacacatgc	ccaccgtgcc	cagcacctga	agctgcaggg	720
ggaccgtcag	tcttcctctt	ccccccaaaa	cccaaggaca	ccctcatgat	ctccccggacc	780
cctgagggtca	catgcgtggt	ggtggacgtg	agccacgaag	accctgaggt	caagttcaac	840
tgttacgtgg	acggcgtgga	ggtgcataat	gccaagacaa	agccgcggga	ggagcagtag	900
aacagcacgt	accgtgtggt	cagcgtcctc	accgtcctgc	accaggactg	gctgaatggc	960
aaggagtaca	agtgcgaagg	ctccaacaaa	gccctcggcg	cccccatcga	gaaaaccatc	1020
tccaaagcca	aagggcagcc	ccgagaacca	caggtgtgca	ccctgcccc	atccccggat	1080
gagctgacca	agaaccaggt	cagcctctcg	tgcgcagtca	aaggcttcta	tcccagcgac	1140
atcgccgtgg	agtgggagag	caatgggcag	ccggagaaca	actacaagac	cacgcctccc	1200
gtgctggact	ccgacggctc	cttcttcctc	gtgagcaagc	tcaccgtgga	caagagcagg	1260
tggcagcagg	ggaacgtctt	ctcatgctcc	gtgatgcatg	aggctctgca	caaccactac	1320
acgcagaaga	gcctctccct	gtctccgggt	aaa			1353

<210> 289

<211> 592

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> DP47GS Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm

<400> 289

Glu	Val	Gln	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	Tyr
			20				25						30	
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp
			35				40						45	
Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser
			50				55						60	
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu
65					70				75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr
			85						90					95
Ala	Lys	Gly	Ser	Gly	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val
			100						105					110
Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala
			115				120						125	
Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu
			130				135					140		
Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly
145					150					155				160
Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser
			165						170					175
Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu
			180						185					190
Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr
			195				200							205
Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr
			210				215							220
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
225					230					235				240
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro
			245						250					255
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val
			260					265					270	

482862.TXT

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320
 Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys
 340 345 350
 Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
 355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly
 435 440 445
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser Ser
 450 455 460
 Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
 465 470 475 480
 Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr
 485 490 495
 Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu
 500 505 510
 Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val
 515 520 525
 Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
 530 535 540
 Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
 545 550 555 560
 Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
 565 570 575
 Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
 580 585 590

<210> 290

<211> 1776

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> DP47GS Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 qm

<400> 290

gaggtgcaat	tgttggagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	cacctttagc	agttatgcca	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccagggaaagg	ggctggagtg	ggtctcagct	attagtggta	gtgggtggtag	cacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaaggcagc	300
ggatttgact	actggggcca	aggaaccctg	gtcaccgtct	cgagtgtctag	caccaagggc	360
ccatcgggtct	tccccctggc	accctcctcc	aagagcacct	ctggggggcac	agcggccctg	420
ggctgcctgg	tcaaggacta	cttccccgaa	ccggtgacgg	tgctgtggaa	ctcaggcgcc	480
ctgaccagcg	gcgtgcacac	cttcccggct	gtcctacagt	cctcaggact	ctactccctc	540
agcagcgtgg	tgaccgtgcc	ctccagcagc	ttgggcaccc	agacctacat	ctgcaacgtg	600
aatcacaagc	ccagcaacac	caaggtggac	aagaaagttg	agcccaaadc	ttgtgacaaa	660
actcacacat	gcccaccgtg	cccagcacct	gaagctgcag	ggggaccgtc	agtcttcctc	720
ttccccccaa	aacccaagga	caccctcatg	atctccccgga	cccctgaggt	cacatgcgtg	780
gtggtggacg	tgagccacga	agaccctgag	gtcaagttca	actggtacgt	ggacggcggtg	840
gaggtgcata	atgccaagac	aaagccgcgg	gaggagcagt	acaacagcac	gtaccgtgtg	900
gtcagcgtcc	tcaccgtcct	gcaccaggac	tggctgaatg	gcaaggagta	caagtgcgaag	960

482862.TXT

gtctccaaca	aagccctcgg	cgcccccatc	gagaaaacca	tctccaaagc	caaagggcag	1020
ccccgagaac	cacaggtgta	caccctgccc	ccatgccggg	atgagctgac	caagaaccag	1080
gtcagcctgt	gggtgcctggt	caaaggcttc	tatcccagcg	acatcgccgt	ggagtgggag	1140
agcaatgggc	agccggagaa	caactacaag	accacgcctc	ccgtgctgga	ctccgacggc	1200
tccttcttcc	tctacagcaa	gctcaccgtg	gacaagagca	ggtggcagca	ggggaacgtc	1260
ttctcatgct	ccgtgatgca	tgaggctctg	cacaaccact	acacgcagaa	gagcctctcc	1320
ctgtctccgg	gtggcggcgg	aggctccgga	ggcggagggt	ctggcggagg	tggctccgca	1380
cctgcctcaa	gttctacaaa	gaaaacacag	ctacaactgg	agcatttact	gctggattta	1440
cagatgattt	tgaatggaat	taataattac	aagaatccca	aactcaccag	gatgctcaca	1500
gccaaagttt	ccatgcccc	gaaggccaca	gaactgaaac	atcttcagtg	tctagaagaa	1560
gaactcaaac	ctctggagga	agtgtctaat	ggcgctcaaa	gcaaaaactt	tcacttaaga	1620
cccagggact	taatcagcaa	tatcaacgta	atagttctgg	aactaaaggg	atctgaaaca	1680
acattcatgt	gtgaatatgc	tgatgagaca	gcaaccattg	tagaatttct	gaacagatgg	1740
attacctttg	cccaaagcat	catctcaaca	ctgact			1776

<210> 291

<211> 592

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> DP47GS Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 wt (2)

<400> 291

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
			20					25					30		
Ala	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ser	Ala	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70				75					80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85					90					95		
Ala	Lys	Gly	Ser	Gly	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr
			100					105					110		
Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro
		115					120					125			
Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val
	130					135					140				
Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala
145					150				155					160	
Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly
			165					170					175		
Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly
			180					185					190		
Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys
	195						200					205			
Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys
	210					215					220				
Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu
225					230				235					240	
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
			245					250						255	
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys
			260					265					270		
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
	275					280						285			
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
	290					295					300				
Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
305					310				315					320	
Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Gly	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys
			325					330						335	

482862.TXT

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys
 340 345 350
 Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
 355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly
 435 440 445
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ala Pro Thr 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 Phe Lys Phe Tyr 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 Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
 530 535 540
 Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
 545 550 555 560
 Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
 565 570 575
 Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
 580 585 590

<210> 292

<211> 1776

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> DP47GS Fab HC-Fc botón (LALA P329G)-IL-2 wt (2)

<400> 292

gaggtgcaat	tgttgaggatc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	cacctttagc	agttatgcc	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccagggaagg	ggctggagtg	ggtctcagct	attagtggta	gtgggtggtag	cacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaaggcagc	300
ggatttgact	actggggcca	aggaaccctg	gtcaccgtct	cgagtgtctag	caccaagggc	360
ccatcgggtc	tccccctggc	accctcctcc	aagagcacct	ctggggggcac	agcggccctg	420
ggctgcctgg	tcaaggacta	cttccccgaa	ccggtgacgg	tgtcgtggaa	ctcaggcgcc	480
ctgaccagcg	gcgtgcacac	cttccccggc	gtcctacagt	cctcaggact	ctactccctc	540
agcagcgtgg	tgaccgtgcc	ctccagcagc	ttgggcaccc	agacctacat	ctgcaacgtg	600
aatcacaaagc	ccagcaacac	caagggtggac	aagaaaagttg	agcccaaata	ttgtgacaaa	660
actcacacat	gcccaccgtg	cccagcacct	gaagctgcag	ggggaccgtc	agtcttcctc	720
ttcccccaa	aaccaagga	caccctcatg	atctcccga	cccctgaggt	cacatgcgtg	780
gtggtggacg	tgagccacga	agaccctgag	gtcaagttca	actggtacgt	ggacggcggtg	840
gaggtgcata	atgccaagac	aaagccgcgg	gaggagcagt	acaacagcac	gtaccgtgtg	900
gtcagcgtcc	tcaccgtcct	gcaccaggac	tggctgaatg	gcaaggagta	caagtgaag	960
gtctccaaca	aagccctcgg	cgcccccatc	gagaaaacca	tctccaaagc	caaaggcgag	1020
ccccgagaac	cacaggtgta	caccctgccc	ccatgccggg	atgagctgac	caagaaccag	1080
gtcagcctgt	ggtgcctggt	caaaggcttc	tatcccagcg	acatcgccgt	ggagtgggag	1140
agcaatgggc	agccggagaa	caactacaag	accacgcctc	ccgtgctgga	ctccgacggc	1200
tccttcttcc	tctacagcaa	gctcaccgtg	gacaagagca	ggtggcagca	ggggaacgtc	1260
ttctcatgct	ccgtgatgca	tgaggctctg	cacaaccact	acacgcagaa	gagcctctcc	1320
ctgtctcccg	gtggcggcgg	aggctccgga	ggcgagggtt	ctggaggcgg	aggctccgca	1380
cctacttcaa	gttctacaaa	gaaaacacag	ctacaactgg	agcatttact	gctggattta	1440

482862.TXT

cagatgattt	tgaatggaat	taataattac	aagaatccca	aactcaccag	gatgctcaca	1500
tttaagtttt	acatgcccaa	gaaggccaca	gaactgaaac	atcttcagtg	tctagaagaa	1560
gaactcaaac	ctctggagga	agtgcataat	ttagctcaaa	gcaaaaactt	tcacttaaga	1620
cccagggact	taatcagcaa	tatcaacgta	atagttctgg	aactaaaggg	atctgaaaca	1680
acattcatgt	gtgaatatgc	tgatgagaca	gcaaccattg	tagaatttct	gaacagatgg	1740
attacccttg	cccaaagcat	catctcaaca	ctgact			1776

<210> 293
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> CH1A1A 98/99 2F1; VL
 <400> 293

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

<210> 294
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> CH1A1A 98/99 2F1; VL
 <400> 294

gatatccaga	tgacccagtc	tccatcctcc	ctgtctgcat	ctgtgggaga	cagagtcacc	60
atcacttgca	aggccagtg	ggctgtgggt	acgtatgttg	cggtggatca	gcagaaacca	120
gggaaagcac	ctaagctcct	gatctattcg	gcacccctacc	gcaaaagggg	agtcccatca	180
aggttcagtg	gcagtgagtc	tgggacagat	ttcactctca	ccatcagcag	tctgcaacct	240
gaagatttcg	caacttacta	ctgtcaccaa	tattacacct	atcctctatt	cacgtttggc	300
cagggcacca	agctcgagat	caag				324

<210> 295
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> CH1A1A 98/99 2F1; VH
 <400> 295

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								

<210> 296
 <211> 363
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> CH1A1A 98/99 2F1; VH
 <400> 296
 caggtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggagctag tgtgaaggtg 60
 tcctgcaagg ccagcggcta caccttcacc gagttcggca tgaactgggt ccgacaggct 120
 ccaggccagg gcctcgaatg gatgggctgg atcaacacca agaccggcga ggccacctac 180
 gtggaagagt tcaagggcag agtgaccttc accacggaca ccagcaccag caccgcctac 240
 atggaactgc ggagcctgag aagcgacgac accgccgtgt actactgcgc cagatgggac 300
 ttcgcctatt acgtggaagc catggactac tggggccagg gcaccaccgt gaccgtgtct 360
 agc 363

<210> 297
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> DP47GS VL
 <400> 297
 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 Tyr Gly Ser Ser Pro
 85 90 95
 Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 298
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> DP47GS VL
 <400> 298
 gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
 ctctcttgca gggccagta gagtgtagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
 cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180
 gacaggttca gtggcagtg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
 cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagtatggta gctcaccgct gacgttcggc 300
 caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 299
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> DP47GS VH
 <400> 299
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser 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 Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60

482862.TXT

Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70				75						80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85						90					95	
Ala	Lys	Gly	Ser	Gly	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr
			100					105					110		

Val Ser Ser
115

<210> 300

<211> 345

<212> DNA

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> DP47GS VH

<400> 300

gaggtgcaat	tgttggagtc	tgggggaggc	ttggtacagc	ctgggggggtc	cctgagactc	60
tcctgtgcag	cctccggatt	caccttagc	agttatgcc	tgagctgggt	ccgccaggct	120
ccaggggaagg	ggctggagtg	ggtctcagct	attagtggta	gtgggtggtag	cacatactac	180
gcagactccg	tgaagggccg	gttcaccatc	tccagagaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcagatga	acagcctgag	agccgaggac	acggccgtat	attactgtgc	gaaaggcagc	300
ggatttgact	actggggcca	aggaaccctg	gtcaccgtct	cgagt		345

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

see form PCT/ISA/220

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

28.2.2013 *he*

International application No.
PCT/EP2012/057587

International filing date (day/month/year)
26.04.2012

Priority date (day/month/year)
29.04.2011

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07K14/55 C12N15/26 A61K39/395 A61K47/48 C07K16/46 C07K19/00 C07K14/54

Applicant
ROCHE GLYCART AG

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step and industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0
Fax: +49 89 2399 - 4465

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Bonello, Steve

Telephone No. +49 89 2399-0



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/EP2012/057587

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, this opinion has been established on the basis of a sequence listing filed or furnished:
 - a. (means)
 - ☐ on paper
 - ☒ in electronic form
 - b. (time)
 - ☒ in the international application as filed
 - ☐ together with the international application in electronic form
 - ☐ subsequently to this Authority for the purposes of search
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>15, 16, 18, 19, 25-35, 46-81</u>
	No: Claims	<u>1-14, 17, 20-24, 36-45, 82</u>
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-82</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-82</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/EP2012/057587

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

The documents mentioned in the present written opinion are numbered as in the search report, i.e. D1 corresponds to the first document of the search report etc.

V. Reasoned statement on Novelty, Inventive Step and Industrial Applicability

1 Novelty (Art.33(2) PCT)

- 1.1 D1 (WO2008/143954) is directed towards an immunoconjugate comprising a single chain Fc domain and an antigen binding fragment (e.g. Fab or scFv). It also discloses the said immunoconjugate further comprising an effector moiety (see, **D1**:Pg.3 l.1-13, Pg.8 l.10 - 25, Pg.19 l.1 -24, Pg.48 l.9 -18, Pg. 112 l.5-23, Pg.117 l.26 - 32, Pg.120 -122, Pg.123 l.5 -10).
- 1.2 Since the immunoconjugates comprising only one effector protein are also contemplated by D1, the subject-matter disclosed in claims 1 - 14, 17, 20-24, 26, 36 - 45 and 82 is anticipated by the said prior art document.
- 1.3 Novelty is acknowledged for claims 15,16,18,19,25-35, 46 - 81.

2 Inventive Step (Art.33(3) PCT)

- 2.1 Claims 15,16,18,19,25-35, 46 - 81 do not appear to fulfill the requirements for inventive step.
- 2.2 Claims 16, 18,19, 25 - 35 appear to be directed towards modifications of the subject-matter disclosed in D1 which would be obvious to a person skilled in the art when trying to optimise the said immunoconjugate (see also, **D4**, US7404956: Col.3 l.60 - Col.4 l.28, Col.12 l.15 - Col.14 l.15, **D5**: Ortiz-Sánchez et al: Pg.617 - 619).
- 2.3 D1 is considered to be the closest prior art to claims 46 - 81. The difference between claims 46 - 81 and D1 is in the sequence of the Fab domain. A direct comparison between the disclosed immunoconjugates is not available, hence, it is assumed that they both have equivalent technical effects. The problem to be solved is therefore directed towards the provision of an alternative immunoconjugate. In the application this is solved via provision of the heavy chain variable region Seq ID No.299, and the light chain variable region Seq ID No.297.

2.4 As shown, for example by D2 (WO2010111282), methods for screening and isolating heavy chain variable sequences are well known in the art (see, **D2**: Pg.31 Par.111, 112, Pg.39 Par.134, Pg.42 Par.145). Moreover, the advantages of having a single effector moiety are also known (see, **D3**, US7404956: Col.3 l.60 - Col.4 l.28, Col.12 l.15- Co.14 l.15, Col.15 l.40).

2.5 Hence, the immunoconjugate defined in the said claims, is considered to be an arbitrary choice over any other sequence having the same function.

3 Industrial Applicability (Art.33(4) PCT)

3.1 The present claims appear to have industrial applicability.

VIII. Certain observations on the international application

4 Sufficiency fo Disclosure and Clarity (Art.6 PCT)

4.1 The term "*effector moiety*" in claim 1 is unclear because neither its structural nor its function technical features are defined in the claim. Consequently, a skilled person would not be able to determine what subject-matter falls within the scope of the claim. Any effect is therefore considered to fall within the scope of the claim.

4.2 Claims 10, 18, 48, 53, 61 lack sufficiency of disclosure because the technical features necessary to achieve the said "*altered binding*" / "*altered oligosaccharide structure*" / "*promoting heterodimerization*" are not present in the claim formulation. Hence, the claim merely defines the result to be achieved without teaching the skilled person how to arrive to the defined subject-matter.

4.3 References to the term "*knob-in-hole modification*" in claims 7, 8 are vague and open to interpretation. Hence, any modification is considered to fall within its scope.

4.4 The term "*ADCC*" in claims 12, 55 is unclear. For the purpose of this opinion it is interpreted as referring to antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity.

4.5 Claim 18 does not explain in what way or what technical effect is obtained by altering the oligosaccharide structure of the Fc domain. Hence the claim lacks sufficiency of disclosure and clarity.

4.6 It is not clear in claims 21, 65 what is meant by the term "*are part of the of an immunoglobulin moiety*".

- 4.7 The numbering system used when referring to residue position has not been defined in the claims thus rendering all claims directed towards mutations unclear and lacking in sufficiency of disclosure.

For the purpose of this search, the residue positions have been interpreted in accordance with the Kabat system (see Application: Pg.19 I.25).

- 4.8 It is noted that claims 32, 73 encompass any polynucleotide sequence since the said "*fragment*" has not been restricted by any technical features.
- 4.9 The scope of claim 82 is lacks clarity.

Possible steps after receipt of the international search report (ISR) and written opinion of the International Searching Authority (WO-ISA)

General information	For all international applications filed on or after 01/01/2004 the competent ISA will establish an ISR. It is accompanied by the WO-ISA. Unlike the former written opinion of the IPEA (Rule 66.2 PCT), the WO-ISA is not meant to be responded to, but to be taken into consideration for further procedural steps. This document explains about the possibilities.
Amending claims under Art. 19 PCT	Within 2 months after the date of mailing of the ISR and the WO-ISA the applicant may file amended claims under Art. 19 PCT directly with the International Bureau of WIPO. The PCT reform of 2004 did not change this procedure. For further information please see Rule 46 PCT as well as form PCT/ISA/220 and the corresponding Notes to form PCT/ISA/220.
Filing a demand for international preliminary examination	In principle, the WO-ISA will be considered as the written opinion of the IPEA. This should, in many cases, make it unnecessary to file a demand for international preliminary examination. If the applicant nevertheless wishes to file a demand this must be done before expiry of 3 months after the date of mailing of the ISR/ WO-ISA or 22 months after priority date, whichever expires later (Rule 54bis PCT). Amendments under Art. 34 PCT can be filed with the IPEA as before, normally at the same time as filing the demand (Rule 66.1 (b) PCT). If a demand for international preliminary examination is filed and no comments/amendments have been received the WO-ISA will be transformed by the IPEA into an IPRP (International Preliminary Report on Patentability) which would merely reflect the content of the WO-ISA. The demand can still be withdrawn (Art. 37 PCT).
Filing informal comments	After receipt of the ISR/WO-ISA the applicant may file informal comments on the WO-ISA directly with the International Bureau of WIPO. These will be communicated to the designated Offices together with the IPRP (International Preliminary Report on Patentability) at 30 months from the priority date. Please also refer to the next box.
End of the international phase	At the end of the international phase the International Bureau of WIPO will transform the WO-ISA or, if a demand was filed, the written opinion of the IPEA into the IPRP, which will then be transmitted together with possible informal comments to the designated Offices. The IPRP replaces the former IPER (international preliminary examination report).
Relevant PCT Rules and more information	Rule 43 PCT, Rule 43bis PCT, Rule 44 PCT, Rule 44bis PCT, PCT Newsletter 12/2003, OJ 11/2003, OJ 12/2003

Bitte beachten Sie, dass angeführte Nichtpatentliteratur (wie z. B. wissenschaftliche oder technische Dokumente) je nach geltendem Recht dem Urheberrechtsschutz und/oder anderen Schutzarten für schriftliche Werke unterliegen könnte. Die Vervielfältigung urheberrechtlich geschützter Texte, ihre Verwendung in anderen elektronischen oder gedruckten Publikationen und ihre Weitergabe an Dritte ist ohne ausdrückliche Zustimmung des Rechtsinhabers nicht gestattet.

Veillez noter que les ouvrages de la littérature non-brevets qui sont cités, par exemple les documents scientifiques ou techniques, etc., peuvent être protégés par des droits d'auteur et/ou toute autre protection des écrits prévue par les législations applicables. Les textes ainsi protégés ne peuvent être reproduits ni utilisés dans d'autres publications électroniques ou imprimées, ni rediffusés sans l'autorisation expresse du titulaire du droit d'auteur.

Please be aware that cited works of non-patent literature such as scientific or technical documents or the like may be subject to copyright protection and/or any other protection of written works as appropriate based on applicable laws. Copyrighted texts may not be copied or used in other electronic or printed publications or re-distributed without the express permission of the copyright holder.

ANEXO

El documento que acredita la calidad de REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores **ALICIA LLOREDA** y/o **GUSTAVO TAMAYO** y/o **IGNACIO SANTAMARIA** y/o **ENRIQUE ALVAREZ** para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se está presentando con esta solicitud. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.


ALICIA LLOREDA RICAURTE

T.P. No. 53.215

TRADUCCION OFICIAL No. 2011-05-23-341
DE UN DOCUMENTO PRESENTADO EN INGLES

Poder de Representación Legal, documento escrito en inglés y en español.

Legalización

El suscrito, Notario Público del Cantón de la ciudad de Basilea (Suiza), Dr. Christoph Nertz, por el presente legaliza la firma de Roche Glycart AG, una sociedad anónima con domicilio en Schlieren (Suiza), prestada por

El señor Antonio Natoli, ciudadano y residente en Basilea (Suiza), y La Señora Susanne Amann, ciudadana alemana, residente en Heitersheim (Alemania), ambos debidamente facultados para firmar documentos donde la propiedad de la sociedad es alienada.

Personalmente conozco a los signatarios y las firmas.

Basilea (Suiza), este día 13 (trece) de abril de 2011 (dos mil once).

Sello.

(firma: ilegible)

BV 306/2011

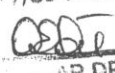
APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Suiza
Este documento oficial
2. ha sido firmado por (ilegible)
3. actuando como Notario Público
4. y certificado por el sello del anterior nombrado

Certificado

5. en Basilea
6. el 14 de abril de 2011
7. por la Cancillería de Estado del Cantón de la Ciudad de Basilea
8. No. 2473 / 5209
9. Sello/Estampilla
Sello de la Cancillería de Estado
de la Ciudad de Basilea
10. Firma: (ilegible)
Hanna Lauener

TRADUCTORA OFICIAL
R.D. 177/89 MINJUSTICIA

ANITA L. DE TAMAYO

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

071152
Anda Escobar
COTAFI PARA PARECE EN EL
DOCUMENTO DE EMPRESA
LAS FUNCIONES INDICADAS

MAY 26 A 6:50

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

CERTIFICACION

expedida por el Registro Comercial del Cantón de Zurich

Por el presente certifico que la sociedad anterior está registrada en el Registro Comercial del Cantón de Zurich; una sociedad en comandita por acciones de nombre

Roche Glycart AG-----

(Roche Glycart Ltd)-----

domiciliada en Schlieren-----

Dirección: Wagistrasse 18, 8952 Schlieren-----

Esta sociedad ha sido registrada en el Registro Comercial del Cantón de Zurich el 18 de septiembre de 2000. Ha sido registrada en el registro mencionado bajo las siguientes versiones:

Del 18 de septiembre de 2000 – 21 de marzo de 2001

GlycArt Biotechnology GmbH-----

(GlycArt Biotechnology Ltd liab. Co)-----

Con registro en el diario no. 7749 el 21 de marzo de 2001, el siguiente registro fue publicado en la Gaceta Comercial Oficial de Suiza (SHAB), no. 60 el 27 de marzo de 2001:

Comentarios: En la asamblea de accionistas el 16.03.2001, se resolvió que el capital accionario se pagara completamente, que se podía aumentar en CHF 20,000.00 a CHF 100,000.00, y que GlycArt Biotechnology GmbH se transformara en una sociedad incluida en una lista pública. La Sociedad continuará comercializando sus activos y pasivos según la hoja del balance del 31.12.2000, sin haber sido liquidada.

Del 21 de marzo de 2001 – 20 de noviembre de 2003

GlycArt Biotechnology AG-----
(GlycArt Biotechnology Ltd)-----

Del 20 de noviembre de 2003 – 23 de diciembre de 2009

GlycArt Biotechnology AG-----
(GlycArt Biotechnology Ltd)-----

Ha sido registrada el 23 de diciembre de 2009 bajo el siguiente nombre:

Roche Glycart AG-----
(Roche Glycart Ltd)-----

Además certifico que la sociedad mencionada está organizada de conformidad con las leyes de Suiza.

El Registro Comercial del Cantón de Zurich no puede ofrecer ninguna garantía en cuanto a la fidelidad de la traducción del texto original en alemán de este registro en el Registro Comercial.

Zurich, Suiza, 28 de junio de 2010

Número de la sociedad: CH-020.4.333-11

Firmado: HI

Derechos: CHF 180.--

Sello

(firma: ilegible)

Basilea (Suiza), este día 13 (trece) de julio de 2010 (dos mil diez).

Oblea Notarial

(firma: ilegible)

BV 165/2010

APOSTILLA

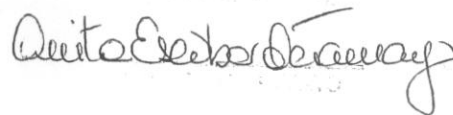
(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Suiza
Este documento oficial
2. ha sido firmado por (ilegible)
3. actuando como Notario Público
4. y certificado por el sello del anterior nombrado

Certificado

5. en Basilea	6. el 4 de mayo de 2011
7. por la Cancillería de Estado del Cantón de la Ciudad de Basilea	
8. No. 2855 / 6082	
9. Sello/Estampilla	10. Firma: (ilegible)
Sello de la Cancillería de Estado	Hanna Lauener
de la Ciudad de Basilea	

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 24 de mayo de 2011, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.



NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

071152

Anda Escobar -
Cuya firma aparece en el
documento de sempena
las funciones indicadas

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

MAY 26 A 6:50

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

Los abajo firmados,

Roche Glycart AG

con domicilio en

Wagistrasse 18
CH-8952 Schlieren (Suiza)

nombramos por el presente a ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, domiciliados en Bogotá, Colombia, con oficinas en dicha ciudad, Calle 72 No. 5-83, piso 6o., nuestros representantes legales y verdaderos en Bogotá, con facultades para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales, con el fin de dar cumplimiento al párrafo 1o. del artículo 543 del decreto 410 de 1971.

Los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, o los apoderados que cualquiera de ellos designe, quedan especialmente facultados para representarnos ante las autoridades colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en todos los trámites relativos a la propiedad industrial, a cuyo efecto les facultamos para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado; elevar solicitudes, declaraciones, reclamos, recursos y presentar desistimientos; formular descripciones, enmiendas, limitar el alcance de las solicitudes, presentar oposiciones y apelaciones; instaurar cancelaciones, renunciar total o parcialmente a los registros, abonar todos los impuestos y cuotas y efectuar todo otro pago determinado por la ley; recibir todos los documentos y valores, dando el descargo respectivo; llenar cualesquiera otros requisitos y tomar, en fin, todas las medidas que creyeran conducentes al resguardo de nuestros intereses; y en caso de producirse oposición, pasando los antecedentes a los tribunales, quedan facultados para tomar intervención como demandantes o demandados ante los jueces que sean competentes, pudiendo transar, someter a árbitros, desistir, percibir y apelar, con todas las demás facultades que resulten necesarias, y por el presente declaramos desde ahora válido y bueno cuanto dichos representantes y/o los apoderados que cualquiera de ellos nombre hicieren en nuestro beneficio.

Asimismo, facultamos a los doctores ALICIA LLOREDA y/o GUSTAVO TAMAYO y/o IGNACIO SANTAMARIA y/o ENRIQUE ALVAREZ, para solicitar en la Oficina de Propiedad Industrial la protocolización de este documento y de cualquier poder que cualquiera de ellos otorgue a nombre nuestro.

Dado y firmado

The undersigned,

Roche Glycart AG

domiciled at

Wagistrasse 18
CH-8952 Schlieren (Switzerland)

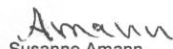
hereby appoint, ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, of Bogotá, Colombia, with offices in said town, Calle 72 No. 5-83, Sixth Floor, our true and legal representatives in Bogotá, with power to receive notifications and to appoint judicial or extrajudicial agents, so as to comply with paragraph 1o. of article 543 of decree 410 of 1971.

Doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, or the agents by any one of them appointed, are especially empowered to represent us before the administrative, judicial or police authorities of Colombia, in all proceedings pertaining to industrial property, for which purpose we authorize them to take before the said authorities all the necessary steps for the said end; to file petitions, declarations, claims, recourses and withdrawals, to draw up specifications; to file amendments, to limit the scope of applications, file oppositions; file cancellations total or partially waive registrations, to pay all installments and effect all other payments prescribed by law; to receive proper receipts, to comply with all other requirements and, in short, to take all those measures which they may deem fit for the protection of our interests; and in case of opposition, where the proceedings be passed over to the courts, we authorize said agents to act on our behalf, as complainants as well as defendants, before the competent judges, with full powers to make arrangements, to submit to arbitrators, to desist, to collect, to appeal and, in short, with all such further powers as may be required, and we hereby declare from now on as valid and good all that said representatives and/or the agents by any one of them appointed may do for our benefit.

We also authorize doctors ALICIA LLOREDA and/or GUSTAVO TAMAYO and/or IGNACIO SANTAMARIA and/or ENRIQUE ALVAREZ, to apply for protocolization of this document and of any power of attorney by any one of them conferred in our name, before the Office of Industrial Property.

Given and signed this 12th day of April 2011.

Roche Glycart AG


Antonio Natoli

Susanne Amann
authorized signatories



Legalization

The undersigned Notary Public of the Canton of Basel-Stadt (Switzerland), Dr. Christoph Nertz, herewith legalizes the overleaf signature

of **Roche Glycart AG**, a stock company with legal domicile in Schlieren (Switzerland), rendered by

Mister Antonio Natoli, citizen of and residing in Basel (Switzerland), and

Miss Susanne Amann, German citizen, residing in Heitersheim (Germany),

both duly entitled also to sign documents wherein property of the company is alienated.

Signers and signatures personally known.

B a s e l (Switzerland), this 13th (thirteenth) day of April 2011 (two thousand and eleven).



Dr. Christoph Nertz

BV 306/2011

APOSTILLE

(Hague Convention of October 5th, 1961)

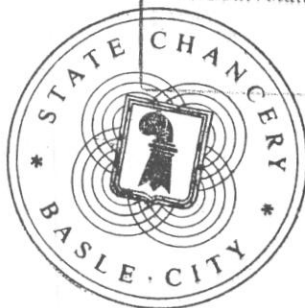
1. Country: Switzerland (Schweiz / Suisse)
This official document
2. is signed by *Dr. iur. Chr. Nertz*
3. in his/her function as *notary public*
4. and certified by the seal of the *above mentioned*

Certified

5. in Basel (Bâle)
6. on *14. April 2011*
7. by the State Chancery of the Canton of Basel-Stadt
8. no. *2473/5209*
9. Seal / stamp;

10. Signature:

H. Lauener
Hanna Lauener





For true photocopy

HANDELSREGISTERAMT DES KANTONS ZÜRICH

CERTIFICATION

issued by the Commercial Registry of Canton Zurich

It is hereby certified that the following company is entered in the Commercial Register of Canton Zurich: a joint stock company by the name of

Roche Glycart AG-----
(Roche Glycart Ltd)-----

domiciled in Schlieren-----
Address: Wagistrasse 18, 8952 Schlieren-----

This company has been entered in the Commercial Register of Canton Zurich since 18th September 2000. It has been entered in the aforementioned register under the following versions:

From 18th September 2000 - 21st March 2001
GlycArt Biotechnology GmbH-----
(GlycArt Biotechnology Ltd liab. Co)-----

With journal entry no. 7749 of 21 March 2001, the following entry was published in the Official Commercial Gazette of Switzerland (SHAB), no. 60 of 27 March 2001:

Remarks: At the shareholders' meeting on 16.03.2001, it was resolved that the share capital be fully paid up, that it be increased by CHF 20,000.00 to CHF 100,000.00, and that GlycArt Biotechnology GmbH be transformed into a publicly listed corporation. The Company will continue trading with all of its assets and liabilities as per the balance sheet of 31.12.2000, without being liquidated.

From 21st March 2001 - 20th November 2003
GlycArt Biotechnology AG-----
(GlycArt Biotechnology Ltd.)-----

From 20th November 2003 - 23rd December 2009
GlycArt Biotechnology AG-----
GlycArt Biotechnology Ltd)-----

It has been entered since 23th December 2009 under the following name:
Roche Glycart AG-----
(Roche Glycart Ltd)-----

It is further certified that the aforementioned company is organized according to the laws of Switzerland.

The Commercial Registry Office of the Canton of Zurich can offer no guarantee as to the accuracy of the translation from the original German text of this entry in the Commercial Register.

Zurich, Switzerland, 28th June 2010
Company number: CH-020.4.022.333-1
Signed: HI
Fee: CHF 180.--



(Handwritten signature)

For true photocopy:

Basel (Switzerland), this 13th (thirteenth) day of July 2010 (two thousand and ten).

Dr. f. a. Schlager, Not

BV 165/2010

APOSTILLE

(Hague Convention of October 5th, 1961)

1. Country: Switzerland (Schweiz / Suisse)

This official document

2. is signed by *Dr. f. a. Schlager*

3. in his/her function as *notary public*

4. and certified by the seal of the *above mentioned*

Certified

> 4. Mai 2011

5. in Basel (Bâle)

6. on

7. by the State Chancery of the Canton of Basel-Stadt

8. no. *28.55/6082*

9. Seal/stamp:

10. Signature:

H. Lauener

Hanna Lauener





(51) International Patent Classification:

C07K 14/55 (2006.01) *C07K 16/46* (2006.01)
C12N 15/26 (2006.01) *C07K 19/00* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *C07K 14/54* (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/EP2012/057587

(22) International Filing Date:

26 April 2012 (26.04.2012)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

11164237.7 29 April 2011 (29.04.2011) EP

(71) Applicant (for all designated States except US): **ROCHE GLYCART AG** [CH/CH]; Wagistrasse 18, CH-8952 Schlieren (CH).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **AST, Oliver** [DE/CH]; Jakob Spaltensteinstrasse 12, CH-8303 Bassersdorf (CH). **BRUENKER, Peter** [DE/CH]; Burgwiesenstrasse 3c, CH-8335 Hittnau (CH). **HOFER, Thomas U.** [CH/CH]; Buhnrain 8, CH-8052 Zuerich (CH). **HOSSE, Ralf** [DE/CH]; Schmiedstrasse 8, CH-6330 Cham (CH). **KLEIN, Christian** [DE/CH]; Chruezacherweg 41, CH-8906 Bonstetten (CH). **MOESSNER, Ekkehard** [DE/CH]; Felsenburgweg 5, CH-8280 Kreuzlingen (CH).

UMANA, Pablo [CR/CH]; Felsenrainstrasse 28, CH-8832 Wollerau (CH).

(74) Agent: **BRODBECK, Michel**; Grenzacherstrasse 124, CH-4070 Basel (CH).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

- with international search report (Art. 21(3))
- with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))



(54) Title: NOVEL IMMUNOCONJUGATES

(57) Abstract: The present invention generally relates to antigen-specific immunoconjugates for selectively delivering effector moieties that influence cellular activity. More specifically, the invention provides novel immunoconjugates comprising a first antigen binding moiety, an Fc domain and a single effector moiety. In addition, the present invention relates to polynucleotides encoding such immunoconjugates, and vectors and host cells comprising such polynucleotides. The invention further relates to methods for producing the immunoconjugates of the invention, and to methods of using these immunoconjugates in the treatment of disease.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference 27444 WO	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/EP2012/057587	International filing date (<i>day/month/year</i>) 26/04/2012	(Earliest) Priority Date (<i>day/month/year</i>) 29/04/2011
Applicant ROCHE GLYCART AG		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 7 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed
- ☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6**bis**(a)).

c. ☒ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
- ☐ the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant
- ☐ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____
- ☐ as suggested by the applicant
- ☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure
- ☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention
- b. ☒ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2012/057587

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:
 - a. (means)

☐

 on paper
 - ☒

 in electronic form
 - b. (time)

☒

 in the international application as filed
 - ☐

 together with the international application in electronic form
 - ☐

 subsequently to this Authority for the purpose of search
2.

☐

 In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2012/057587

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07K14/55 C12N15/26 A61K39/395 A61K47/48 C07K16/46
C07K19/00 C07K14/54

ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, EMBASE, FSTA

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008/143954 A2 (BIOGEN IDEC INC [US]; FARRINGTON GRAHMA K [US]; SAEED-KOTHE AMNA [US];) 27 November 2008 (2008-11-27)	1-14,17, 20-24, 36-45,82
Y	page 3, lines 1-13 page 8, lines 10-25 page 19, lines 1-24 page 48, lines 9-18 page 112, lines 5-23 page 117, lines 26-32 pages 120-122 page 123, lines 5-10 ----- -/--	15,16, 18,19, 25-35, 46-81



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 June 2012

Date of mailing of the international search report

09/07/2012

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bonello, Steve

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2012/057587

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2010/111282 A1 (US GOVERNMENT [US]; HO MITCHELL [US]; PASTAN IRA [US]) 30 September 2010 (2010-09-30) sequence 30 page 25, paragraph 92 page 5, paragraph 14 - page 6, paragraph 20 page 30, paragraphs 108,109 page 31, paragraphs 111,112 page 38, paragraph 131 page 39, paragraph 134 page 42, paragraph 145 -----	16,18, 19, 25-35, 46-81
Y	WO 2011/020783 A2 (ROCHE GLYCART AG [CH]; HOSSE RALF [CH]; MOESSNER EKKEHARD [CH]; SILACC) 24 February 2011 (2011-02-24) page 3, line 23 - page 4, line 22; sequence 229 -----	46-81
Y	US 7 404 956 B2 (PETERS ROBERT T [US] ET AL) 29 July 2008 (2008-07-29) column 3, line 60 - column 4, line 28 column 12, line 15 - column 14, line 15 column 15, line 40 -----	16,18, 19, 25-35, 46-81
Y	ELIZABETH ORTIZ-SÁNCHEZ ET AL: "Antibody cytokine fusion proteins: applications in cancer therapy", EXPERT OPINION ON BIOLOGICAL THERAPY, ASHLEY, LONDON, GB, vol. 8, no. 5, 1 May 2008 (2008-05-01), pages 609-632, XP008145785, ISSN: 1471-2598, DOI: 10.1517/14712598.8.5.609 page 617, column 2 - page 619, column 1 -----	25-35
A	WO 2008/003473 A2 (MERCK PATENT GMBH [DE]; GILLIES STEPHEN D [US]) 10 January 2008 (2008-01-10) page 2, paragraph 9 page 7, lines 6-14 page 13, lines 1-14 page 14, lines 8-16 page 24, paragraph 70 - page 26, paragraph 76 ----- -/--	1-82

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2012/057587

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2006/119897 A2 (PHILOGEN SPA [IT]; NERI DARIO [CH]; GAFNER VERENA [CH]; HALIN CORNELIA) 16 November 2006 (2006-11-16) cited in the application page 1, lines 28-31 page 3, lines 1-5 page 3, lines 25-35 page 4, lines 23-29 -----	1-82
A	WO 03/048334 A2 (EMD LEXIGEN RES CT CORP [US]) 12 June 2003 (2003-06-12) cited in the application page 5, paragraph 19 page 10, paragraph 39 page 11, paragraph 41 -----	1-82
A	RICART A D ET AL: "Technology Insight: Cytotoxic drug immunoconjugates for cancer therapy", NATURE CLINICAL PRACTICE ONCOLOGY, NATURE PUBLISHING GROUP, US, vol. 4, no. 4, 1 April 2007 (2007-04-01), pages 245-255, XP009134780, ISSN: 1743-4254, DOI: 10.1038/NCPONC0774 page 245 - page 253 -----	1-82
Y	WO 2010/088444 A1 (MEDIMMUNE LLC [US]; BOWEN MICHAEL [US]; WU HERREN [US]; DALL ACQUA WIL) 5 August 2010 (2010-08-05) page 111, line 18 - page 115, line 10 -----	15,16, 18,19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2012/057587

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008143954	A2	27-11-2008	AU 2008254951 A1 27-11-2008
		CA 2687117 A1 27-11-2008	
		CN 101802197 A 11-08-2010	
		EP 2158318 A2 03-03-2010	
		JP 2010528588 A 26-08-2010	
		KR 20100021601 A 25-02-2010	
		US 2009252729 A1 08-10-2009	
		US 2011243966 A1 06-10-2011	
		WO 2008143954 A2 27-11-2008	
WO 2010111282	A1	30-09-2010	AU 2010230063 A1 20-10-2011
		CA 2756393 A1 30-09-2010	
		EP 2411416 A1 01-02-2012	
		US 2012107933 A1 03-05-2012	
		WO 2010111282 A1 30-09-2010	
WO 2011020783	A2	24-02-2011	AR 077879 A1 28-09-2011
		CA 2769619 A1 24-02-2011	
		CR 20120042 A 22-03-2012	
		EP 2467165 A2 27-06-2012	
		KR 20120053042 A 24-05-2012	
		TW 201119672 A 16-06-2011	
		US 2011064751 A1 17-03-2011	
		WO 2011020783 A2 24-02-2011	
US 7404956	B2	29-07-2008	AT 446307 T 15-11-2009
		AU 2004252422 A1 06-01-2005	
		BR PI0410345 A 30-05-2006	
		CA 2522590 A1 06-01-2005	
		CN 1852736 A 25-10-2006	
		CN 102234334 A 09-11-2011	
		EP 1625209 A2 15-02-2006	
		EP 1654378 A2 10-05-2006	
		EP 2174946 A1 14-04-2010	
		EP 2357196 A2 17-08-2011	
		EP 2361932 A1 31-08-2011	
		IL 171779 A 30-11-2010	
		JP 2007500744 A 18-01-2007	
		JP 2012067142 A 05-04-2012	
		US 2005027109 A1 03-02-2005	
		US 2005032174 A1 10-02-2005	
		US 2007172928 A1 26-07-2007	
		US 2008249288 A1 09-10-2008	
		US 2011159540 A1 30-06-2011	
		US 2011182919 A1 28-07-2011	
		WO 2004101739 A2 25-11-2004	
		WO 2005001025 A2 06-01-2005	
WO 2008003473	A2	10-01-2008	AU 2007271398 A1 10-01-2008
		CA 2656700 A1 10-01-2008	
		EP 2038417 A2 25-03-2009	
		JP 2009542592 A 03-12-2009	
		US 2008025947 A1 31-01-2008	
		WO 2008003473 A2 10-01-2008	
WO 2006119897	A2	16-11-2006	AT 459648 T 15-03-2010
		AU 2006246061 A1 16-11-2006	
		BR PI0609100 A2 17-02-2010	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2012/057587

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
		CA 2607954 A1	16-11-2006	
		CN 101258162 A	03-09-2008	
		EA 200702460 A1	30-06-2008	
		EP 1891102 A2	27-02-2008	
		ES 2341126 T3	15-06-2010	
		HK 1113579 A1	30-04-2010	
		JP 2008543278 A	04-12-2008	
		KR 20080009161 A	24-01-2008	
		US 2009035255 A1	05-02-2009	
		WO 2006119897 A2	16-11-2006	

WO 03048334	A2	12-06-2003	AT 542137 T	15-02-2012
			AU 2002357784 A1	17-06-2003
			BR 0214650 A	03-05-2005
			CA 2469151 A1	12-06-2003
			CN 1599867 A	23-03-2005
			DK 1454138 T3	13-02-2012
			EP 1454138 A2	08-09-2004
			EP 2354791 A1	10-08-2011
			ES 2381025 T3	22-05-2012
			HU 0402541 A2	29-03-2005
			JP 4795640 B2	19-10-2011
			JP 2005511707 A	28-04-2005
			KR 20050044862 A	13-05-2005
			MX PA04005266 A	11-10-2004
			PL 206975 B1	29-10-2010
			PT 1454138 E	28-03-2012
			RU 2312677 C2	20-12-2007
			US 2003166163 A1	04-09-2003
			US 2007036752 A1	15-02-2007
			US 2009098609 A1	16-04-2009
			WO 03048334 A2	12-06-2003

WO 2010088444	A1	05-08-2010	AU 2010208125 A1	21-07-2011
			CA 2749200 A1	05-08-2010
			CN 102387814 A	21-03-2012
			EP 2391384 A1	07-12-2011
			KR 20110108398 A	05-10-2011
			SG 172354 A1	28-07-2011
			US 2012034212 A1	09-02-2012
			WO 2010088444 A1	05-08-2010

		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES TARJETA ARCHIVO TEMÁTICO	
PATENTE DE INVENCION ____ PCT <u>X</u> MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL ____			
(21) No. de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 29-10-13			
(51) Clasificación Internacional: C07K 14/55			
(71) Solicitante(s): ROCHE GLYCART AG.			
(72) Inventor(es): AST, Oliver; BRUENKER, Peter; HOFER, Thomas U.; HOSSE, Ralf; KLEIN, Christian; MOESSNER, Ekkehard y UMANA Pablo.			
(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE			
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad 11164237.7	(32) Fecha 29-04-11	(33) País EP
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 29-11-13		(87) Publicación internacional:	
(86) Datos relativos a la presentación de la solíc. PCT Fecha de presentación de la solicitud: 26-04-12 No. de solicitud: PCT/EP2012/057587		Fecha: 01-11-12 No. Publicación: WO 2012/146628 A1	
(54) Título: NUEVOS INMUNOCONJUGADOS.			
(57) Resumen - Reivindicación(es): Resumen.- La presente invención en general está relacionada con inmunoconjugados específicos de antígeno para la liberación selectiva de porciones efectoras que influyen en la actividad celular. Más específicamente, la invención proporciona nuevos inmunoconjugados que comprenden una primera porción de unión a antígeno, un dominio Fc y una única porción efectora. Además, la presente invención está relacionada con los polinucleótidos que codifican tales inmunoconjugados, y con los vectores y células huésped que comprenden tales polinucleótidos. La invención además está relacionada con los métodos para producir los inmunoconjugados de la invención, y con los métodos de utilización de estos inmunoconjugados en el tratamiento de una enfermedad. Sector: Inmunoconjugados específicos de antígeno para liberar de forma selectiva porciones efectoras que influyen en la actividad celular, métodos de preparación y composiciones farmacéuticas que los comprenden.			

		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS	
PATENTE DE INVENCION ____ PCT <u>X</u> MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL ____			
(21) No. de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 29-10-13			
(51) Clasificación Internacional: C07K 14/55			
(71) Solicitante(s): ROCHE GLYCART AG.			
(72) Inventor(es): AST, Oliver; BRUENKER, Peter; HOFER, Thomas U.; HOSSE, Ralf; KLEIN, Christian; MOESSNER, Ekkehard y UMANA Pablo.			
(74) Apoderado: ALICIA LLOREDA RICAURTE			
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad 11164237.7	(32) Fecha 29-04-11	(33) País EP
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 29-11-13		(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud: 26-04-12 No. de solicitud: PCT/EP2012/057587		Fecha: 01-11-12 No. publicación: WO 2012/146628 A1	
(54) Título: NUEVOS INMUNOCONJUGADOS.			

TRADUCCION OFICIAL No. 2013-09-11-459
DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES

Caso 27444

Traspaso

Fotocopia fiel

Yo/Nosotros, el suscrito

Oliver Ast, científico, ciudadano alemán
Chruezacherstrasse 14
CH-8303 Bassersdorf, Suiza

Peter Bruenker, biólogo molecular, ciudadano alemán
Burgwiesentrasse 3c
CH-8335 Hittnau, Suiza

Thomas U. Hofer, investigador científico, ciudadano suizo
Buhnrain 8
CH-8052 Zuerich, Suiza

Ralf Hosse, investigador científico, ciudadano alemán
Schmiedstrasse 6/8
CH-6330 Cham, Suiza

Christian Klein, bioquímico, ciudadano alemán
Chruezacherweg 41
CH-8906 Bonstetten, Suiza

Ekkehard Moessner, investigador científico, ciudadano alemán
Felsenburgweg 5
CH-8280 Kreuzlingen, Suiza

Pablo Umaña, director científico, ciudadano de Costa Rica

Fuhrstrasse 24a
CH-8820 Waedenswil, Suiza

CEDENTE(S), por el presente declaro que soy/somos el inventor(es) único/conjunto de la invención llamada:

Nuevos Inmunoconjugados

para la cual la primera solicitud(es) se presentó así:

<u>País</u>	<u>Fecha de presentación</u>	<u>No. Serial</u>
27444 EP	29.04.2011	11164237.7

y que por una causa contractual adecuada, el recibo y suficiencia de lo cual se reconoce por el presente, yo/nosotros he vendido, cedido y transferido todos los derechos y título a y de dicha invención y de dicha solicitud(es) en todos los países del mundo al CESIONARIO:

Roche Glycart AG
Wagistrasse 18
CH-8952 Schlieren (Suiza)

Se requiere notaría
(Ver las firmas en el otro lado)

El presente traspaso es para, pero no se limita a, los siguientes países:

Argentina, Australia, Austria, Bélgica, Brasil, Canadá, Chile, Colombia, República Checa, Dinamarca, Finlandia, Francia, Alemania, Grecia, Hungría, Irlanda, Israel, Italia, Japón, Kazajistán, Corea, Luxemburgo, México, Mónaco, Holanda, Nueva Zelanda, Noruega, Pakistán, República Popular China, Filipinas, Polonia, Portugal, Rusia, Arabia Saudita, Sur Africa, España, Suecia, Suiza, Taiwán, Turquía, Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte, Ucrania, Uruguay, EE.UU., Venezuela.

En virtud de este traspaso dicho CESIONARIO tiene pleno poder para solicitar y obtener en su propio nombre o en cualquier otro nombre y para sus propios fines y cuenta PATENTE DE

INVENCION en todo el mundo, especialmente en los países anteriormente nombrados, y a reivindicar el derecho de prioridad de la primera solicitud(es) presentada en el país (países) anteriormente nombrado de acuerdo con las convenciones internacionales.

Firmado en Schlieren, Suiza el

(firma: ilegible)	Oliver Ast
(firma: ilegible)	Peter Bruenker
(firma: ilegible)	Thomas U. Hofer
(firma: ilegible)	Ralf Hosse
(firma: ilegible)	Christian Klein
(firma: ilegible)	Ekkehard Moessner
(firma: ilegible)	Pablo Umaña

Certificación Oficial

Visto para autenticación de la firma anterior, colocadas en nuestra presencia por

Señor Ekkehard MÖESSNER, nacido el 20 de abril de 1967, nacionalidad: Alemania, de conformidad con su información residente en Felsenburgweg 5, 8280 Kreuzlingen, identificado con su tarjeta de identidad de Alemania.

Schlieren, 28 de julio de 2011

BK No. 1158

Derechos CHF 20.00

(firma: Ilegible)

Markus Schmid, Notario Asistente

Certificación Oficial

Visto para autenticación de las firmas anteriores, colocadas en nuestra presencia por

Señor Pablo UMAÑA FERNANCEZ, nacido el 23 de septiembre de 1967, nacionalidad: Costa Rica, de conformidad con su información residente en Felsenrainstrasse 28, 8832 Wollerau, identificado con su permiso de residencia B,

Señor Christian KLEIN, nacido el 14 de julio de 1971, nacionalidad: Alemania, de conformidad con su información residente en Chrüzacherweg 41, 8906 Bonstetten, identificado con su tarjeta de identidad de Alemania.

Schlieren, 4 de agosto de 2011

BK No. 1214 + 1215

Derechos CHF 40.00

(firma: ilegible)

Tobias von Arx, Notario Público Asistente

Certificación Oficial

Visto para autenticación de las firmas anteriores, colocadas en nuestra presencia por

Señor Oliver AST, nacido el 18 de marzo de 1967, nacionalidad: Alemania, de conformidad con su información residente en Chrüzacherstrasse 14, 8303 Bassersdorf, identificado con permiso de residencia B,

Señor Peter BRUENKER, nacido el 10 de octubre de 1963, ciudadano suizo de Hittnau, de conformidad con su información residente en Burgwiesenstrasse 3c, 8335, Hittnau, identificado con su pasaporte.

Señor Thomas U. HOFER, nacido el 6 de junio de 1974, ciudadano suizo de Haldenstein GR, de conformidad con su información residente en Alte Mühleackerstrasse 50, 8046 Zürich, identificado con su tarjeta de identidad.

Señor Ralf HOSSE, nacido el 29 de junio de 1973, nacionalidad: Alemania, de conformidad con su información residente en Schmiedstrasse 8, 6330 Cham, identificado con su tarjeta de identidad de Alemania.

Schlieren, 23 de agosto de 2011

BK No. 1402-1405

Derechos CHF 80.00

(firma: ilegible)

Markus Schmid, Notario Asistente

Aceptamos este traspaso
Basilea, Suiza, este día 5 de septiembre de 2011
Roche Glycart AG
(firma: Ilegible) (firma: Ilegible)
Antonio Natoli Susanne Amann
Signatario autorizado Signatario autorizado

Fotocopia fiel:

Basilea (Suiza), este día 22 (veintidós) de diciembre de 2011 (dos mil once).

Sello notarial

BV 802/2011

(firma: Ilegible)

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Suiza
Este documento oficial
2. ha sido firmado por Dr. (ilegible) Christoph Nertz
3. actuando como Notario Público
4. y certificado por el sello de la persona anteriormente mencionada

Certificado

5. en Basilea	6. el 27 de diciembre de 2011
7. por la Cancillería de Estado del Cantón de la Ciudad de Basilea	
8. No. 8731 / 18119	
9. Sello/Estampilla Cancillería de Estado Ciudad de Basilea	10. Firma: (ilegible) Hanna Lauener

Traducido según mi mejor saber y entender, este día 11 de septiembre de 2013, en la ciudad de Bogotá, D.C., por Anita Escobar de Tamayo, Traductora Oficial, Res. 2177 de 1989, Ministerio de Justicia, República de Colombia.

TRADUCTORA OFICIAL
ANITA ESCOBAR DE TAMAYO

MINISTERIO DE JUSTICIA
(471800.DOC v.1)5

Assignment

For true photocopy

I/WE, the undersigned

Oliver Ast, scientist, a German citizen
Chruezacherstrasse 14
CH-8303 Bassersdorf, Switzerland

Peter Bruenker, molecular biologist, a German citizen
Burgwiesenstrasse 3c
CH-8335 Hittnau, Switzerland

Thomas U. Hofer, research scientist, a Swiss citizen
Buhnrain 8
CH-8052 Zuerich, Switzerland

Ralf Hosse, research scientist, a German citizen
Schmiedstrasse 6/8
CH-6330 Cham, Switzerland

Christian Klein, biochemist, a German citizen
Chruezacherweg 41
CH-8906 Bonstetten, Switzerland

Ekkehard Moessner, research scientist, a German citizen
Felsenburgweg 5
CH-8280 Kreuzlingen, Switzerland

Pablo Umaña, chief scientific officer, a Costa Rican citizen
Fuhrstrasse 24a
CH-8820 Waedenswil, Switzerland

ASSIGNOR(S), herewith declare that I am/we are the sole/joint inventor(s) of the invention entitled:

Novel Immunoconjugates

for which the first application(s) was (were) filed as follows:

<u>Country</u>	<u>Filing date</u>	<u>Serial No.</u>
27444 EP	29.04.2011	11164237.7

and that for good and valuable consideration, the receipt and sufficiency of which is hereby acknowledged, I/WE have sold, assigned and transferred all rights and title to and from the said invention and from the said application(s) in all countries of the world to the ASSIGNEE:

Roche Glycart AG
Wagistrasse 18,
CH-8952 Schlieren(Switzerland)

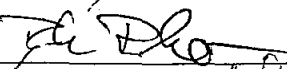
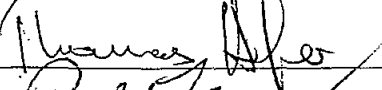
Notarization required
(signatures see reverse side)

The present assignment is for, but is not limited to the following countries:

Argentina, Australia, Austria, Belgium, Brazil, Canada, Chile, Colombia, Czech Republic, Denmark, Finland, France, Germany, Greece, Hungary, Ireland, Israel, Italy, Japan, Kazakhstan, Korea, Luxembourg, Mexico, Monaco, Netherlands, New Zealand, Norway, Pakistan, People's Republic of China, Philippines, Poland, Portugal, Russia, Saudi Arabia, South Africa, Spain, Sweden, Switzerland, Taiwan, Turkey, United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland, Ukraine, Uruguay, U.S.A., Venezuela.

By virtue of this assignment the said ASSIGNEE is fully entitled to apply for and obtain in their own name or in any other name and for their own purposes and account LETTERS PATENT in the whole world, especially in the above-named countries, and to claim therefor the right of priority of the first filed application(s) in the above-named country (countries) in accordance with international conventions.

Signed at Schlieren, Switzerland on

	Oliver Ast
	Peter Bruenker
	Thomas U. Hofer
	Ralf Hosse
	Christian Klein
	Ekkehard Moessner
	Pablo Umaña

Official Certification

Official Cert
Seen for
Mr

Seen for authentication of the reverse side signature, affixed in our presence by

Mr. **Dr. Ekkehard MÖSSNER**, born 20th April 1967, Nationality: Germany, according to his information residing at Felsenburgweg 5, 8280 Kreuzlingen, identified by German identity card.

Schlieren, 28th July 2011
K no. 1158
Fee CHF 20.00



NOTARIAT SCHLIEREN

Markus Schmid, Notariatsassistent

Official Certification

Seen for authentication of the foregoing signatures, affixed in our presence by

Mr. **Pablo UMANA FERNANDEZ**, born 23rd September 1967, Nationality: Costa Rica, according to his information residing at Felsenrainstrasse 28, 8832 Wollerau, identified by residence permit B,

Mr. **Christian KLEIN**, born 14th July 1971, Nationality: Germany, according to his information residing at Chrüzacherweg 41, 8906 Bonstetten, identified by German identity card.

Schlieren, 4th August 2011
BK no. 1214 + 1215
Fee CHF 40.00



NOTARIAT SCHLIEREN

Tobias von Arx, Deputy Notary Public

Official Certification

seen for authentication of the reverse side signatures, affixed in our presence by

Mr. **Oliver AST**, born 18th March 1967, Nationality: Germany, according to his information residing at Chrüzacherstrasse 14, 8303 Bassersdorf, identified by residence permit B,

Mr. **Peter BRUENKER**, born 10th October 1963, Swiss citizen of Hittnau, according to his information residing at Burgwiesenstrasse 3c, 8335 Hittnau, identified by passport,

Mr. **Thomas U. HOFER**, born 6th June 1974, Swiss citizen of Haldenstein GR, according to his information residing at Alte Mühleackerstrasse 50, 8046 Zürich, identified by identity card,

Mr. **Ralf HOSSE**, born 29th June 1973, Nationality: Germany, according to his information residing at Schmiedstrasse 8, 6330 Cham, identified by German identity card.

Schlieren, 23rd August 2011
BK no. 1402-1405
Fee CHF 80.00

NOTARIAT SCHLIEREN



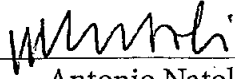
M. Schmid
Markus Schmid, Notariatsassistent

We accept this assignment

Basle, Switzerland, this

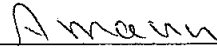
5 day of September 2011

Roche Glycart AG



Antonio Natoli

Authorized signatory



Susanne Amann

Authorized signatory

For true photocopy:

Basel (Switzerland), this 22nd (twenty-second) day of December 2011 (two thousand and eleven)

M. J. J. J.

BV 802/2011

APOSTILLE

(Hague Convention of October 5th, 1961)

1. Country: Switzerland (Schweiz / Suisse)

This official document

2. is signed by *Dr. iur.*

Christoph Netz

3. in his/her function as *notary public*

4. and certified by the seal of the

above mentioned

Certified

5. in Basel (Bâle)

6. on *27. Dez. 2011*

7. by the State Chancery of the Canton of Basel-Stadt

8. no. *8231 / 18 1 19*

9. Seal / stamp:

10. Signature:

H. Lauener
Hanna Lauener

