SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 13-150839- -00011-0000
Fecha: 2015-09-03 16:43:03 Dep: 2020 DIR.NUEVASCR
Tra: 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act: 851 DIVISIONAL Folios: 4

Industria y Comercio
SUPERIN SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 15-208033- -00000-0000
Fecha: 2015-09-03 16:43:09 Dep: 2020 DIR.NUEVASCR
Tra: 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act: 411 PRESENTACION Folios: 4

SOL

164

PATENTE DE INVENCIÓN

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO **"POLIPÉPTIDOS INTERLEUQUINA- 2 MUTANTES"**

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

71. SOLICITANTE **ROCHE GLYCART AG**

DOMICILIO SCHLIEREN, SUIZA.

74. REPRESENTANTE LEGAL ALICIA LLOREDA RICAURTE
T.P. 53.215

22. BOGOTÁ, D.C. 03 SEP 2015

(FORMA P 10)

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 13-150839- -00011-0000
Fecha: 2015-09-03 16:43:08 Dep: 2020 DIR NUEVASCR
Tra: 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act: 851 DIVISIONAL Folios: 1

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 15-208033- -00000-0000
Fecha: 2015-09-03 16:43:09 Dep: 2020 DIR NUEVASCR
Tra: 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act: 411 PRESENTACION Folios: 4

DIRECCIÓN DE NUEV.
CONVERSIÓN, DIVISIÓN Y FU

1. Identificación del Trámite

☐ **Conversión** ☒ **División** ☐ **Fusión**

☒ Patente de Invención
☐ Patente de Modelo de Utilidad
☐ Registro de Diseño Industrial
☐ Esquema de Trazado de Circuitos Integrados

2. Datos del Solicitante:

Persona Natural ☐ Persona Jurídica ☒

ROCHE GLYCART AG
Nombre o Denominación / Nombre o Razón Social Completa

ALICIA LLOREDA RICAURTE
Nombre Representante Legal

Tipo de Empresa: Micro ☐ Pequeña ☐ Mediana ☐ Otra ☒

Documento de Identificación: ☒ C.C. ☐ C.E. ☐ NIT ☐ Otro Número **39.690.713**

Nacionalidad / País de Constitución	Dirección y Domicilio del Titular	Ciudad
Suiza	Wagistrasse 18, CH-8952 Schlieren, Suiza	Schlieren

Dirección Electrónica	Fax	Número Telefónico
notificacionespatentes@lloredacamacho.com	6069701	3264270

☒ **Autorizo expresamente a la Superintendencia de Industria y Comercio para que todas las comunicaciones sean enviadas a través de la dirección de correo electrónico**

3. Datos del Apoderado:

LLOREDA RICAURTE ALICIA	C.C. 39.690.713	53.215
Apellidos y Nombre	Documento de Identificación	Tarjeta Profesional

Dirección y Domicilio		Ciudad
Calle 72 No. 5-83 Piso 5°		Bogotá D.C.
Dirección Electrónica	**No. Fax**	**Número Telefónico**
notificacionespatentes@lloredacamacho.com	6069701	3264270

En caso de haber presentado poder general para asuntos que se adelanten ante la Delegatura de Propiedad Industrial, sírvase indicar el número de su radicación o protocolo de poder general _____

4. Datos del Trámite

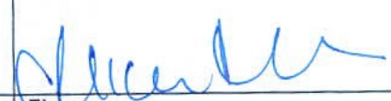
CONVERSIÓN	DIVISIÓN	FUSIÓN
Expediente No. _____ De: _____ A: _____	**Expediente No.** 13-150.839 **No. Divisionales** 1	**Expediente No.** _____ **Expediente No.** _____

5. Comprobante de Pago No. 15-0075480 **Fecha:** Julio 07, 2015

6. Anexos

- ☒ Comprobante de pago de la tasa para la presentación de la corrección y/o modificación.
- ☒ Poder, si fuere el caso con el que se acredita la representación.
- ☐ Número de documento que ordena la comisión o fusión o división.
- ☒ Documento que contiene la conversión, división o fusión de la solicitud.
- ☒ Copia de la solicitud y sus anexos en formato magnético

7. Firma

ALICIA LLOREDA RICAURTE		
Nombre y apellidos	Representante Apoderado	Firma
C.C. 39.690.713 de Usaquén		**53.215**
Identificación		Tarjeta Profesional

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	TESTIGO DOCUMENTAL	Folio: 2

Dependencia Jerárquica: DEL PROPIEDAD INDUSTRIAL	**Código**	2000
Dependencia Productora: GRUPO DE NUEVAS CREACIONES	**Código**	2020
Tipo de Radicación: Entrada: **X** Salida: □ Traslado: □ Convenio: □		
Radicador:		

DESCRIPCIÓN DE LA PRUEBA

Nombre de la Serie / Subserie:	Código:
Expediente: 13-150839-11 15-208033-0	Solicitante / ***Quejoso / Demandante / otros.***
Prueba excluida: cd	
N°. de Pruebas excluidas: 1	
Fecha de emisión de la Prueba:	

UBICACIÓN DE LA PRUEBA EN LA SECCIÓN DE MATERIAL GRÁFICO

N°. de bloque:		Otras especificaciones:
Nº. de rodante:		
Nº. de estante:		
N°. de archivador:		
Nº. de entrepaño:		
Nº. de gaveta:		
N°. de caja:		

IMPORTANTE:

- El material gráfico ***o especial*** que se encuentra ***dentro o anexo a*** las unidades documentales o expedientes, debe extraerse y llevarse a aquella sección del archivo que se haya dispuesto para conservar documentos en distintos formatos.
- Entiéndase por material gráfico todos aquellos dibujos, croquis, mapas, planos, fotografías, ilustraciones, pictografías, códices, prensa, objetos tridimensionales, entre otros.

Observaciones:

El CD contiene 8 archivos en formato PDF procesados y cargados al sistema.

Andres.

Unidad de Conservación

- ○ Bolsa
- ○ Caja
- ○ Libro
- ○ Sobre
- ○ Tomo
- ○ Otro

Soporte Documental

- ⊗ CD
- ○ Disquete
- ○ DVD
- ○ Folleto
- ○ Periódico
- ○ Plano
- ○ Publicación Periódica
- ○ USB
- ○ Otro

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

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 15 - 0075480

Bogotá D.C., Julio 07 de 2015 - 10:37:53

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	702287600	07/07/2015	3.260.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	2205 DIVISIONAL SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION CONT. DERE	478.000.00	478.000.00
				$478.000.00

SON: **CUATROCIENTOS SETENTA Y OCHO MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
-****-

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 13-150839- -00011-0000
Fecha 2015-09-03 16:43:08 Dep 2020 DIR.NUEVASCR
Tra 11 PATENTEIYII Eve 378 FASENACIONALI
Act 851 DIVISIONAL Folios 4

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO5
No. 15-208033- -00000-0000
Fecha 2015-09-03 16:43:09 Dep 2020 DIR NUEVASCR
Tra 11 PATENTEIYII Eve 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios 4

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

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 15 - 0096218

Bogotá D.C., Septiembre 01 de 2015 - 16:38:42

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	698959236	01/09/2015	3.582.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
10	50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION PATENTE UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INIC	32.000.00	320.000.00
				$320.000.00

SON: **TRESCIENTOS VEINTE MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
-******-

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 13-150839- -00011-0000
Fecha 2015-09-03 16:43:08 Dep. 2020 DIR NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios 4

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO5
No. 15-208033- -00000-0000
Fecha 2015-09-03 16:43:09 Dep. 2020 DIR NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios 4

POLIPÉPTIDOS INTERLEUQUINA- 2 MUTANTES

RESUMEN-OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCIÓN

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

SECTOR: Farmacéutico. La invención se refiere a polipéptidos IL-2 mutantes que muestran propiedades mejoradas para la utilización como agentes inmunoterapéuticos.

POLIPÉPTIDOS INTERLEUQUINA- 2 MUTANTES

Campo de la invención

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

Antecedentes

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

IL-2 media su acción mediante la unión a receptores de IL-2 (IL-2R), que consisten de hasta tres subunidades individuales, la diferente asociación de las cuales puede producir formas de receptor que difieren en su afinidad para IL-2. La asociación de las subunidades α (CD25), β (CD122) y γ (γc, CD132) resulta en un receptor trimérico de alta afinidad para IL-2. El receptor dimérico de IL-2 que consiste de subunidades β y γ se denomina IL-2R de afinidad intermedia. La subunidad α forma el receptor de IL-2 monomérico de baja afinidad. Aunque el receptor de IL-2 dimérico de afinidad intermedia se une a IL-2 con una afinidad aproximadamente 100 veces inferior que el receptor trimérico de alta afinidad, tanto la variante

dimérica como la trimérica de receptor de IL-2 puede transmitir señales tras la unión de IL-2 (Minami *et al.*, Annu. Rev. Immunol. 11:245-268, 1993). Por lo tanto, la subunidad α, CD25, no resulta esencial para la señalización de IL-2. Proporciona una unión de alta afinidad a su receptor, mientras que la subunidad β, CD122, y la subunidad γ resultan cruciales para la transducción de señales (Krieg *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. 107:11906-11, 2010). Los receptores de IL-2 triméricos, incluyendo CD25, son expresados por células T reguladoras (T_{reg}) de caja de cabeza de tenedor P3 $(FoxP3)^+$ $CD4^+$ (en reposo). También son inducidas transitoriamente en células T activadas convencionales, mientras que en el estado de reposo estas células expresan únicamente receptores de IL-2 diméricos. Las células T_{reg} expresan consistentemente el nivel más alto de CD25 *in vivo* (Fontenot *et al.*, Nature Immunol. 6:1142-51, 2005).

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

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

Sin embargo, IL-2 presenta una doble función en la respuesta inmunológica, ya que no sólo media en la expansión y actividad de las células efectoras, sino también se

encuentra crucialmente implicado en el mantenimiento de la tolerancia inmunológica periférica.

Un mecanismo importante subyacente a la autotolerancia periférica es la muerte celular inducida por activación por IL-2 en células T (AICD). La AICD es un proceso por el que las células T totalmente activadas experimentan una muerte celular programada tras la unión de receptores de muerte expresados en la superficie, tales como CD95 (también conocido como Fas) o el receptor de TNF. Al estimular nuevamente con antígeno a través del complejo de receptor de células T (TCR)/CD3 células T activadas por antígeno y que expresan un receptor de IL-2 de alta afinidad (tras una exposición previa a IL-2), se induce la expresión de ligando Fas (FasL) y/o de factor de necrosis tumoral (TNF), haciendo que las células sean susceptibles a la apoptosis mediada por Fas. Este proceso depende de IL-2 (Lenardo, Nature 353:868-61, 1991) y se encuentra mediado por STAT5. Mediante el proceso de AICD en linfocitos T, no sólo puede establecerse tolerancia frente a los autoantígenos, sino también frente a antígenos persistentes que claramente no forman parte del huésped, tales como los antígenos tumorales.

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

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

Un problema adicional de la inmunoterapia de IL-2 son los efectos secundarios producidos por el tratamiento de IL-2 humana recombinante. Los pacientes que

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

Se han adoptado varios enfoques para superar dichos problemas asociados a la inmunoterapia de IL-2. Por ejemplo, se ha encontrado que la combinación de IL-2 con determinados anticuerpos monoclonales anti-IL-2 incrementa los efectos de tratamiento de IL-2 *in vivo* (Kamimura *et al.*, J. Immunol. 177:306-14, 2006; Boyman *et al.*, Science 311:1924-27, 2006). En un enfoque alternativo, se ha mutado IL-2 de diversos modos para reducir su toxicidad y/o para incrementar su eficacia. Hu *et al.* (Blood 101:4853-4861, 2003; publicación de patente US nº 2003/0124678) han sustituido el residuo arginina en posición 38 de IL-2 por triptófano para eliminar la actividad de vasopermeabilidad de IL-2. Shanafelt *et al.* (Nature Biotechnol. 18:1197-1202, 2000) han mutado la asparagina 88 en arginina para incrementar la selectividad para las células T sobre las células NK. Heaton *et al.* (Cancer Res. 53:2597-602, 1993; patente US nº 5.229.109) introdujeron dos mutaciones, Arg38Ala y Phe42Lys para reducir la secreción de citoquinas proinflamatorias a partir de células NK. Gillies *et al.* (publicación de patente US nº 2007/0036752)

sustituyeron tres residuos de IL-2 (Asp2Thr, Asn88Arg y Gln126Asp) que contribuyen a la afinidad para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, para reducir el VLS. Gillies *et al.* (patente WO nº 2008/0034473) también mutaron la interfaz de IL-2 con CD25 mediante la sustitución de Arg38Trp y Phe42Lys para reducir la interacción con CD25 y la activación de las células Treg a fin de incrementar su eficacia. Con el mismo objetivo, Wittrup *et al.* (patente WO nº 2009/061853) produjeron mutantes de IL-2 que presentan una afinidad incrementada para CD25, pero que no activan el receptor, actuando de esta manera como antagonistas. Las mutaciones introducidas estaban destinadas a alterar la interacción con la subunidad β y/o γ del receptor.

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

Descripción resumida de la invención

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

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, en un primer aspecto la invención proporciona un polipéptido interleuquina 2 (IL-2) mutante que comprende una primera mutación de aminoácido que anula o reduce la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de alta afinidad y conserva la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, comparando cada uno con un polipéptido IL-2 de tipo salvaje. En una realización, dicha primera mutación de aminoácido se produce en una posición correspondiente al residuo 72 de la IL-2 humana. En una realización, dicha primera mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido, seleccionada de entre el grupo de L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R y L72K. En una

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

dicha mutación de aminoácido que elimina el sitio de O-glucosilación de IL-2 en una posición correspondiente al residuo 3 de la IL-2 humana es una sustitución de aminoácido seleccionada de entre el grupo de T3A, T3G, T3Q, T3E, T3N, T3D, T3R, T3K y T3P. En una realización específica, la mutación de aminoácido que elimina el sitio de O-glucosilación de IL-2 en una posición correspondiente al residuo 3 de la IL-2 humana es T3A. En determinadas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante es esencialmente una molécula de IL-2 de longitud completa, concretamente una molécula de IL-2 de longitud completa humana.

La invención proporciona además un polipéptido interleuquina-2 mutante unido a una fracción no IL-2. En determinadas realizaciones, dicha fracción no IL-2 es una fracción de dianización. En determinadas realizaciones, dicha fracción no IL-2 es una fracción de unión a antígeno. En una realización, dicha fracción de unión a antígeno es un anticuerpo. En otra realización, dicha fracción de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo. En una realización más específica, dicha fracción de unión a antígeno se selecciona de entre una molécula Fab y una molécula scFv. En una realización particular, dicha fracción de unión a antígeno es una molécula Fab. En otra realización, dicha fracción de unión a antígeno es una molécula scFv. En realizaciones particulares, el polipéptido IL-2 mutante se une a una primera y una segunda fracciones no IL-2. En una de dichas realizaciones, el polipéptido interleuquina-2 mutante comparte un enlace peptídico carboxiterminal con dicha primera fracción no IL-2 y un enlace peptídico aminoterminal con dicha segunda fracción no IL-2. En una realización, dicha fracción de unión a antígeno es una molécula de inmunoglobulina. En una realización más específica, dicha fracción de unión a antígeno es una molécula de inmuoglobulina de clase IgG, concretamente de subclase IgG_1. En determinadas realizaciones, la fracción de unión a antígeno se dirige a un antígeno presentado sobre una célula tumoral o en un ambiente celular tumoral, particularmente un antígeno seleccionado de entre el grupo de la proteína de activación fibroblástica (FAP), el dominio A1 de la tenascina C (TNC A1), el dominio A2 de la tenascina C (TNC A2), el dominio B extra de la fibronectina (EDB), el antígeno carcinoembrionario (CEA) y el proteoglicano condroitín-sulfato asociado a melanoma (MCSP).

La invención también proporciona un inmunoconjugado que comprende un polipéptido IL-2 mutante tal como se describe en la presente memoria, y una fracción de unión a antígeno. En una realización, del inmunoconjugado según la invención, el polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal con dicha fracción de unión a antígeno. En realizaciones particulares, el inmunoconjugado comprende una primera y una segunda fracciones de unión a antígeno. En una de dichas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante comprendido en el inmunoconjugado según la invención comparte un enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal con una primera fracción de unión a antígeno, y una segunda fracción de unión a antígeno comparte un enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal con i) el polipéptido IL-2 mutante, o ii) dicha fracción de unión a antígeno. En una realización, la fracción de unión a antígeno comprendida en el inmunoconjugado según la invención es un anticuerpo, en otra realización dicha fracción de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo. En una realización específica, dicha fracción de unión a antígeno se selecciona de entre una molécula Fab y una molécula scFv. En una realización particular, dicha fracción de unión a antígeno es una molécula Fab. En otra realización particular, dicha fracción de unión a antígeno es una molécula de inmunoglobulina. En una realización más específica, dicha fracción de unión a antígeno es una molécula de inmuoglobulina de clase IgG, concretamente de subclase IgG_1. En determinadas realizaciones, la fracción de unión a antígeno se dirige a un antígeno presentado sobre una célula tumoral o en un ambiente celular tumoral, particularmente un antígeno seleccionado de entre el grupo de la proteína de activación fibroblástica (FAP), el dominio A1 de la tenascina C (TNC A1), el dominio A2 de la tenascina C (TNC A2), el dominio B extra de la fibronectina (EDB), el antígeno carcinoembrionario (CEA) y el proteoglicano condroitín-sulfato asociado a melanoma (MCSP).

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

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

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

También se encuentra comprendida en la invención la utilización del polipéptido mutante o inmunoconjugado de IL-2 tal como se describe en la presente memoria para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento de una enfermedad en un individuo que necesita del mismo.

Se proporciona además un método de tratamiento de una enfermedad en un individuo, que comprende la administración en dicho individuo de una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición que comprende un polipéptido mutante o inmunoconjugado de IL-2 tal como se describe en la presente memoria. Dicha enfermedad preferentemente es el cáncer.

También se proporciona un método para estimular el sistema inmunológico de un individuo, que comprende administrar en dicho individuo una cantidad efectiva de una composición que comprende el polipéptido mutante o inmunoconjugado de IL-2 descrito en la presente memoria en una forma farmacéuticamente aceptable.

Descripción detallada de la invención

Definiciones

Los términos se utilizan en la presente memoria tal como se utilizan generalmente en la técnica, a menos que se definan de otro modo a continuación.

El término "interleuquina-2" o "IL-2" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a cualquier IL-2 nativa procedente de cualquier origen vertebrado, incluyendo mamíferos tales como primates (por ejemplo seres humanos) y roedores (por ejemplo ratones y ratas), a menos que se indique lo contrario. La expresión comprende IL-2 no procesada, así como cualquier forma de IL-2 que resulte del procesamiento dentro de la célula. La expresión también comprende variantes naturales de IL-2, por ejemplo variantes de procesamiento o variantes alélicas. La secuencia de aminoácidos de una secuencia ejemplar de la IL-2 humana se muestra en SEC ID nº 1. La IL-2 humana no procesada comprende además un péptido de señal N-terminal de 20 aminoácidos que presenta la secuencia de SEC ID nº 272, que se encuentra ausente en la molécula de IL-2 madura. La expresión "IL-2 mutante" o "polipéptido IL-2 mutante" tal como se utiliza en la presente memoria pretende comprender cualquier forma mutante de diversas formas de la molécula de IL-2, incluyendo la IL-2 de longitud completa, formas truncadas de IL-2 y formas en las que IL-2 se encuentra unida a otra molécula, tal como mediante fusión o conjugación química. La expresión "longitud completa" utilizada en referencia a IL-2 pretende referirse a la molécula de IL-2 madura de longitud completa. Por ejemplo, la IL-2 humana de longitud completa se refiere a una molécula que presenta 133 aminoácidos (ver, por ejemplo, la SEC ID nº 1). Las diversas formas de mutantes de IL-2 se caracterizan porque presentan por lo menos una mutación de aminoácidos que afecta a la interacción de IL-2 con CD25. Esta mutación puede implicar la sustitución, deleción, truncado o modificación del residuo aminoácido de tipo salvaje localizado normalmente en dicha posición. Los mutantes obtenidos mediante sustitución de aminoácidos resultan preferentes. A menos que se indique lo contrario, una IL-2 mutante puede denominarse en la presente memoria como una secuencia peptídica mutante de IL-2, un polipéptido IL-2 mutante, una proteína IL-2 mutante o un análogo de mutante de IL-2. La denominación de las diversas formas de IL-2 en la presente memoria se realiza respecto a la secuencia mostrada en SEC ID nº 1. En la presente memoria pueden utilizarse diversas denominaciones para indicar la misma mutación. Por ejemplo, una mutación de fenilalanina en la posición 42 a alanina puede indicarse como 42A, A42, A_{42}, F42A o Phe42Ala.

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

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

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

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

La expresión "receptor de IL-2 de alta afinidad" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a la forma heterotrimérica del receptor de IL-2, que consiste de

la subunidad γ del receptor (también conocida como subunidad γ común del receptor de citoquina, γ_c o CD132), la subunidad β del receptor (también conocida como CD122 ó p70) y la subunidad α del receptor (también conocida como CD25 ó p55). La expresión "receptor de IL-2 de afinidad intermedia" en contraste se refiere al receptor de IL-2 que incluye únicamente la subunidad γ y la subunidad β, sin la subunidad α (para una revisión ver, por ejemplo, Olejniczak y Kasprzak, Med. Sci. Monit. 14:RA179-189, 2008).

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

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

La expresión "célula T reguladora" o "célula T_{reg}" se refiere a un tipo especializado de células T $CD4^+$ que puede suprimir las respuestas de otras células T. Las

células T_{reg} se caracterizan por la expresión de la subunidad α del receptor de IL-2 (CD25) y el factor de transcripción P3 de caja de cabeza de tenedor (FOXP3) (Sakaguchi, Annu. Rev. Immunol. 22:531-62, 2004) y desempeñan un papel crítico en la inducción y mantenimiento de la autotolerancia periférica a antígenos, incluyendo los expresados por tumores. Las células T_{reg} requieren IL-2 para su funcionamiento y desarrollo, además de la inducción de sus características supresoras.

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

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión “fracción de unión a antígeno” se refiere a una molécula de polipéptido que se une específicamente a un determinante antigénico. En una realización, una fracción de unión a antígeno es capaz de dirigir la entidad a la que se encuentra unida (por ejemplo una citoquina o una segunda fracción de unión a antígeno) a un sitio diana, por ejemplo a un tipo específico de célula tumoral o estroma tumoral que porta el determinante antigénico. Entre las fracciones de unión a antígeno se incluyen anticuerpos y fragmentos de los mismos, tal como se define adicionalmente en la presente memoria. Entre las fracciones de unión a antígeno preferentes se incluyen un dominio de unión a antígeno de un anticuerpo, que comprende una región variable de cadena pesada de anticuerpo y una región variable de cadena ligera de anticuerpo. En determinadas realizaciones, las fracciones de unión a antígeno pueden comprender regiones constantes de anticuerpo definidas adicionalmente en la presente memoria y conocidas de la técnica. Entre las regiones constantes de cadena pesada que resultan útiles se incluyen cualquiera de los cinco isotipos: α, δ, ε, γ ó μ. Entre las regiones constantes de cadena ligera que resultan útiles se incluyen cualquiera de los dos isotipos: κ y λ.

La expresión “se une específicamente” se refiere a que la unión es selectiva para el antígeno y puede discriminarse de interacciones no deseadas o no específicas. La capacidad de la fracción de unión a antígeno de unirse a un determinante

antigénico específico puede medirse mediante un ensayo de inmunosorción ligada a enzima (ELISA) u otras técnicas que resultarán familiares al experto en la materia, por ejemplo la técnica de resonancia del plasmón superficial (analizada en un instrumento BIAcore) (Liljeblad *et al.*, Glyco. J. 17:323-329, 2000) y ensayos de unión tradicionales (Heeley R.P., Endocr. Res. 28:217-229, 2002).

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

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "polipéptido" se refiere a una molécula compuesta de monómeros (aminoácidos) unidos linealmente mediante enlaces amídicos (también conocidos como enlaces peptídicos). El término “polipéptido” se refiere a cualquier cadena de dos o más aminoácidos, y no se refiere a una longitud específica del producto. De esta manera, dentro de la definición de “polipéptido” se incluyen péptidos, dipéptidos, tripéptidos, oligopéptidos, “proteína”, “cadena de aminoácidos” o cualquier otra expresión utilizada para referirse a una cadena de dos o más aminoácidos, y el término “polipéptido” puede utilizarse en lugar de, o intercambiablemente con, cualquiera de dichos términos. El término “polipéptido” también pretender referirse a los productos de las modificaciones posteriores a la expresión del polipéptido, incluyendo, aunque sin limitación, la glucosilación, acetilación, fosforilación, amidación, derivatización con grupos protectores/bloqueantes, corte proteolítico o modificación con aminoácidos naturales. Puede derivarse un polipéptido de una fuente biológica natural o producirse mediante tecnología recombinante, aunque no se traduce necesariamente a partir de una secuencia de ácidos nucleicos designada. Puede generarse de cualquier manera, incluyendo mediante síntesis química. Un

polipéptido de la invención puede presentar un tamaño de aproximadamente 3 ó más, 5 ó más, 10 ó más, 20 ó más, 25 ó más, 50 ó más, 75 ó más, 100 ó más, 200 ó más, 500 ó más, 1.000 ó más, ó 2.000 ó más aminoácidos. Los polipéptidos pueden presentar una estructura tridimensional definida, aunque no presentan necesariamente dicha estructura. Se hace referencia a los polipéptidos con una estructura tridimensional definida como plegados, y a los polipéptidos que no presentan una estructura tridimensional definida, sino que pueden adoptar un gran número de conformaciones diferentes, como no plegados.

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

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

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

100 veces la fracción X/Y

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

El término "polinucleótido" se refiere a una molécula o constructo aislado de ácidos nucleicos, por ejemplo un ARN mensajero (ARNm), ARN derivado de virus o ADN de plásmido (ADNp). Un polinucléotido puede comprender un enlace fosfodiéster convencional o un enlace no convencional (por ejemplo un enlace amida, tal como

el presente en los ácidos péptido nucleicos (APN). La expresión "molécula de ácidos nucleicos" se refiere a uno o más segmentos de ácido nucleico cualesquiera, por ejemplo fragmentos de ADN o ARN, presentes en un polinucléotido.

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

La referencia a un ácido nucleico o polinucleótido que presenta una secuencia de nucleótidos por lo menos, por ejemplo, 95% "idéntica" a una secuencia de nucleótidos de referencia de la presente invención, se pretende decir que la secuencia de nucleótidos del polinucleótido es idéntica a la secuencia de referencia, excepto en que la secuencia polinucleótida puede incluir hasta cinco mutaciones puntuales por cada 100 nucleótidos de la secuencia de nucleótidos de referencia. En otras palabras, para obtener un polinucleótido que presente una secuencia de nucleótidos por lo menos 95% idéntica a una secuencia de nucleótidos de referencia, hasta 5% de los nucleótidos en la secuencia de referencia pueden delecionarse o sustituirse por otro nucleótido, o puede insertarse en la secuencia de referencia un grupo de nucleótidos de hasta 5% de los

nucleótidos totales de la secuencia de referencia. Estas alteraciones de la secuencia de referencia pueden producirse en las posiciones 5' ó 3' terminales de la secuencia de nucleótidos de referencia o en cualquier sitio entre dichas posiciones terminales, entremezcladas individualmente entre residuos en la secuencia de referencia o en uno o más grupos contiguos dentro de la secuencia de referencia. En la práctica, puede determinarse si alguna secuencia polinucléotida particular es idéntica por lo menos al 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% a una secuencia de nucleótidos de la presente invención convencionalmente mediante la utilización de programas informáticos conocidos, tales como los indicados anteriormente para los polipéptidos (por ejemplo ALIGN-2).

La expresión "casete de expresión" se refiere a un polinucleótido generado recombinantemente o sintéticamente con una serie de elementos ácidos nucleicos especificados que permiten la transcripción de un ácido nucleico particular en una célula diana. El casete de expresión recombinante puede incorporarse en un plásmido, cromosoma, ADN mitocondrial, ADN de plástido, virus o fragmento de ácido nucleico. Típicamente, la parte de casete de expresión recombinante de un vector de expresión incluye, entre otras secuencias, una secuencia de ácidos nucleicos que debe transcribirse y un promotor. En determinadas realizaciones, el casete de expresión de la invención comprende secuencias polinucleótidas que codifican polipéptidos mutantes o inmunoconjugados de IL-2 de la invención o fragmentos de los mismos.

El término "vector" o "vector de expresión" es sinónimo de "constructo de expresión" y se refiere a una molécula de ADN que se utiliza para introducir y dirigir la expresión de un gen específico al que se encuentra operablemente asociado en una célula diana. El término incluye el vector en forma de una estructura autoreplicante de ácidos nucleicos, así como el vector incorporado en el genoma de una célula huésped en la que ha sido introducido. El vector de expresión de la presente invención comprende un casete de expresión. Los vectores de expresión permiten la transcripción de grandes cantidades de ARNm estable. Tras entrar el vector de expresión en la célula diana, la molécula de ácido ribonucleico o proteína que se encuentra codificada por el gen es producido por la maquinaria celular de

transcripción y/o traducción. En una realización, el vector de expresión de la invención comprende un casete de expresión que comprende secuencias polinucleótidas que codifican polipéptidos mutantes o inmunoconjugados de IL-2 de la invención o fragmentos de los mismos.

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

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

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

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

Un "fragmento de anticuerpo" se refiere a una molécula diferente de un anticuerpo intacto, que comprende una parte de un anticuerpo intacto que se une al antígeno al que se une el anticuerpo intacto. Entre los ejemplos de fragmentos de anticuerpo se incluyen, aunque sin limitación, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab')_2$, diacuerpos, anticuerpos lineales, moléculas de anticuerpo de una cadena (por ejemplo scFv) y

anticuerpos multiespecíficos formados de fragmentos de anticuerpo. Para una revisión de determinados fragmentos de anticuerpo, ver Hudson *et al.*, Nat. Med. 9:129-134, 2003. Para una revisión de los fragmentos scFv ver, por ejemplo, Plückthun, en: The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg y Moore editores, Springer-Verlag, New York, páginas 269 a 315, 1994, ver también la patente WO nº 93/16185, y las patentes US nº 5.571.894 y nº 5.587.458. Para un comentario de los fragmentos Fab y $F(ab')_2$ que comprenden residuos de epítopo de unión a receptor de rescate y que presentan una vida media *in vivo* incrementada, ver la patente US nº 5.869.046. Los diacuerpos son fragmentos de anticuerpo con dos sitios de unión a antígeno que pueden ser bivalentes o biespecíficos. Ver, por ejemplo, las patentes EP nº 404.097, WO nº 1993/01161; Hudson *et al.*, Nat. Med. 9:129-134, 2003, y Hollinger *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448, 1993. Los triacuerpos y tetracuerpos también se describen en Hudson *et al.*, Nat. Med. 9:129-134, 2003. Los fragmentos de anticuerpo pueden prepararse mediante diversas técnicas, incluyendo, aunque sin limitación, la digestión proteolítica de un anticuerpo intacto, así como la producción por parte de células huésped recombinantes (por ejemplo *E. coli* o un fago), tal como se describe en la presente memoria.

La expresión "molécula de inmunoglobulina" se refiere a una proteína que presenta la estructura de un anticuerpo natural. Por ejemplo, las inmunoglobulinas de la clase IgG son glucoproteínas heterotetraméricas de aproximadamente 150.000 daltons, compuestos de dos cadenas ligeras idénticas y dos cadenas pesadas idénticas que se encuentran unidas por disulfuros. De extremo N-terminal a extremo C-terminal, cada cadena pesada presenta una región variable (VH), también denominada dominio pesado variable o dominio variable de cadena pesada, seguido de tres dominios constantes (CH1, CH2 y CH3), también denominado región constante de cadena pesada. De manera similar, de extremo N-terminal a extremo C-terminal, cada cadena ligera presenta una región variable (VL), también denominada dominio ligero variable o dominio variable de cadena ligera, seguido de un dominio ligero constante (CL), también denominado región constante de cadena ligera. La cadena pesada de una inmunoglobulina puede asignarse a cinco clases diferentes, denominadas α (IgA), δ (IgD), ε (IgE), γ (IgG) o μ (IgM), algunas de las cuales puede dividirse adicionalmente en subclases, por

ejemplo, γ_1 (IgG_1), γ_2 (IgG_2), γ_3 (IgG_3), γ_4 (IgG_4), α_1 (IgA_1) and α_2 (IgA_2). La cadena ligera de una inmunoglobulina puede asignarse a dos tipos, denominados kappa (κ) y lambda (λ), basándose en la secuencia de aminoácidos de su dominio constante. Una inmunoglobulina esencialmente consiste de dos molécula Fab y un dominio Fc, unidos mediante la región bisagra de la inmunoglobulina.

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

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

La expresión "región hipervariable" o "HVR", tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere cada una de las regiones de un dominio variable de anticuerpo que presentan una secuencia hipervariable y/o que forman bucles definidos estructuralmente ("bucles hipervariables"). Generalmente, los anticuerpos nativos de cuatro cadenas comprenden seis HVRs, tres en el VH (H1, H2, H3) y tres en el VL (L1, L2, L3). Las HVRs generalmente comprende residuos aminoácidos de los bucles hipervariables y/o de las regiones determinantes de complementariedad (CDRS), siendo éstas últimas de la máxima variabilidad de secuencia y/o encontrándose implicados en el reconocimiento de antígeno. Con la excepción de la CDR1 en la VH, las CDRs generalmente comprenden los residuos aminoácidos que forman los bucles hipervariables. Las regiones hipervariables (HVRs) también

se denominan "regiones determinantes de complementariedad" (CDRs) y estas expresiones se utilizan intercambiablemente en la presente memoria para hacer referencia a partes de la región variable que forman las regiones de unión a antígeno. Esta región particular ha sido descrita por Kabat *et al.*, U.S. Dept. of Health and Human Services, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 1983, y por Chothia *et al.*, J. Mol. Biol. 196:901-917, 1987, en donde las definiciones incluyen residuos aminoácidos solapantes o subconjuntos de residuos aminoácidos al compararlas entre sí. Sin embargo, la aplicación de cualquiera de las definiciones para referirse a una CDR de un anticuerpo o variantes de la misma pretende encontrarse comprendida dentro del alcance de la expresión según se define y se utiliza en la presente memoria. Los residuos aminoácidos apropiados que comprenden las CDRs tal como se definen en cada una de las referencias citadas anteriormente se proporcionan a continuación, en la Tabla 1, a título comparativo. El número exacto de residuos que comprende una CDR particular varía dependiendo de la secuencia y tamaño de la CDR. El experto en la materia podrá determinar rutinariamente qué residuos comprende una CDR particular dada la secuencia de aminoácidos de la región variable del anticuerpo.

TABLA 1. Definiciones de CDR[1]

CDR	**Kabat**	**Chothia**	**AbM[2]**
CDR1 de V_H	31-35	26-32	26-35
CDR2 de V_H	50-65	52-58	50-58
CDR3 de V_H	95-102	95-102	95-102
CDR1 de V_L	24-34	26-32	24-34
CDR2 de V_L	50-56	50-52	50-56
CDR3 de V_L	89-97	91-96	89-97

[1] La numeración de todas las definiciones de CDR en la Tabla 1 sigue las convenciones de numeración proporcionadas por Kabat *et al.* (ver posteriormente).

[2] “AbM” con una “b” minúscula, tal como se utiliza en la Tabla 1, se refiere a las CDRs según la definición del programa informático de modelado de anticuerpos “AbM” de Oxford Molecular.

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

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

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

La "clase" de un anticuerpo se refiere al tipo de dominio constante o de región constante que presente la cadena pesada del mismo. Existen cinco clases principales de anticuerpos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y algunas de las mismas, pueden dividirse adicionalmente en subclases (isotipos), por ejemplo IgG_1, IgG_2, IgG_3, IgG_4, IgA_1 e IgA_2. Los dominios constantes de cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas se denominan α, δ, ε, γ, y μ, respectivamente.

La expresión "región Fc" en la presente memoria se utiliza para definir una región C-terminal de una cadena pesada de inmunoglobulina que contiene por lo menos

una parte de la región constante. La expresión incluye las regiones Fc de secuencia nativa y las regiones Fc variantes. Aunque los límites de la región Fc de una cadena pesada de IgG pueden variar ligeramente, la región Fc de cadena pesada de IgG humana se define habitualmente como comprendida entre Cys226, o entre Pro230, y el extremo carboxilo-terminal de la cadena pesada. Sin embargo, la lisina C-terminal (Lys447) de la región Fc puede encontrarse presente o no.

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

La expresión "funciones efectoras" utilizada en referencia a anticuerpos se refiere a aquellas actividades biológicas atribuibles a la región Fc de un anticuerpo que varían según el isotipo del anticuerpo. Entre los ejemplos de funciones efectoras de

anticuerpo se incluyen: la unión de C1q y la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), la unión de receptor Fc, la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC), la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP), la secreción de citoquinas, la regulación negativa de los receptores de superficie celular (por ejemplo los receptores de células B) y la activación de las células B.

Un "receptor de Fc activador" es un receptor de Fc que, tras la uniσn a una regiσn Fc de un anticuerpo, induce sucesos de sepalizaciσn que estimulan a que la cılula portadora de receptores lleve a cabo funciones efectoras. Entre los receptores de Fc activadores se incluyen FcγRIIIa (CD16a), FcγRI (CD64), FcγRIIa (CD32) y FcαRI (CD89).

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

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

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión “fracción de unión a antígeno de control” se refiere a una fracción de unión a antígeno tal como existiría libre de otras fracciones de unión a antígeno y fracciones efectoras. Por ejemplo, al comparar un inmunoconjugado Fab-IL2-Fab de la invención con un grupo de unión

a antígeno de control, el grupo de unión a antígeno de control es Fab libre, en el que el inmunoconjugado Fab-IL2-Fab y la molécula Fab libre pueden unirse ambas específicamente al mismo determinante antigénico.

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

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

Una "cantidad terapéuticamente efectiva" de un agente, por ejemplo de una composición farmacéutica, se refiere a una cantidad efectiva, a las dosis y durante los periodos de tiempo necesarios, para alcanzar el resultado terapéutico o profiláctico deseado. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente, por ejemplo, elimina, reduce, retrasa, minimiza o previene efectos adversos de una enfermedad.

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

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

Un "portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un ingrediente en una composición farmacéutica, diferente de un ingrediente activo, que resulta no tóxico

para un sujeto. Un portador farmacéuticamente aceptable incluye, aunque sin limitación, un tampón, excipiente, estabilizador o conservante.

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

Descripción detallada de las realizaciones

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

Por otra parte, el mantenimiento de la afinidad para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia debería mantener la inducción de la proliferación y activación de células efectoras tales como las células NK y T por parte de IL-2.

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

En un primer aspecto la invención proporciona un polipéptido interleuquina 2 (IL-2) mutante que comprende una primera mutación de aminoácido que anula o reduce la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad α del receptor de IL-2 y conserva la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, comparando cada uno con un polipéptido IL-2 de tipo salvaje.

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

Entre otras características de los mutantes útiles pueden incluirse la capacidad de inducir la proliferación de las células T y/o NK portadoras de receptores de IL-2, la capacidad de inducir la señalización de IL-2 en células T y/o NK portadoras de receptores de IL-2, la capacidad de generar interferón (IFN)-γ como citoquina secundaria por parte de las células NK, una capacidad reducida de inducir la

elaboración de citoquinas secundarias, particularmente IL-10 y TNF-α por parte de células mononucleares sanguíneas periféricas (PBMCs), una capacidad reducida de activar células T reguladoras, una capacidad reducida de inducir apoptosis en las células T y un perfil de toxicidad reducido *in vivo*.

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

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

Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R y Y45K. En una realización particular, dicha segunda mutación de aminoácido se encuentra en una posición correspondiente al residuo 42 ó 45 de la IL-2 humana. En una realización específica, dicha segunda mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido, seleccionada de entre el grupo de F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R y Y45K En una realización más específica, dicha segunda mutación de aminoácido es la sustitución de aminoácido F42A ó Y45A. En una realización más particular, dicha segunda mutación de aminoácido se encuentra en una posición correspondiente al residuo 42 de la IL-2 humana. En una realización específica, dicha segunda mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido, seleccionada de entre el grupo de F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R y F42K. En una realización más específica, dicha sustitución de aminoácido es F42A. En otra realización, dicha segunda mutación de aminoácido se encuentra en una posición correspondiente al residuo 45 de la IL-2 humana. En una realización específica, dicha segunda mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido, seleccionada de entre el grupo de Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R y Y45K. En una realización más específica, dicha sustitución de aminoácido es Y45A. En determinadas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante comprende una tercera mutación de aminoácido que elimina o reduce la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad α del receptor de IL-2 y conserva la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, comparando cada uno con un polipéptido IL-2 de tipo salvaje. Dicha tercera mutación de aminoácido se encuentra en una posición diferente que dichas primera y segunda mutaciones de aminoácidos. En una realización, dicha tercera mutación de aminoácido se encuentra en una posición seleccionada de entre las posiciones correspondientes a los residuos 35, 38, 42, 43 y 45 de la IL-2 humana. En una realización preferente, dicha tercera mutación de aminoácido se encuentra en una posición correspondiente al residuo 42 ó 45 de la IL-2 humana. En una realización, dicha tercera mutación de aminoácido se encuentra en una posición correspondiente al residuo 42 de la IL-2 humana. En otra realización, dicha tercera mutación de aminoácido se encuentra en una posición correspondiente al residuo 45 de la IL-2 humana. En una realización, dicha tercera mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido. En una realización

específica, dicha sustitución de aminoácido se selecciona de entre el grupo de K35E, K35A, R38A, R38E, R38N, R38F, R38S, R38L, R38G, R38Y, R38W, F42L, F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, K43E, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R y Y45K. En una realización más específica, dicha sustitución de aminoácido se selecciona de entre el grupo de F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R y Y45K. En una realización todavía más específica, dicha sustitución de aminoácido es F42A o Y45A. En una realización, dicha sustitución de aminoácido es F42A. En otra realización, dicha sustitución de aminoácido es Y45A. En determinadas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante no comprende una mutación de aminoácido en la posición correspondiente al residuo 38 de la IL-2 humana.

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

En determinadas realizaciones, dicha mutación de aminoácido reduce la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad α del receptor de IL-2 en por lo menos 5 veces, específicamente en por lo menos 10 veces, más específicamente por lo menos 25 veces. En realizaciones en las que se produce más de una mutación de aminoácido que reduce la afinidad del polipéptido IL-S mutante para la subunidad α del receptor de IL-2, la combinación de dichas mutaciones de

aminoácidos puede reducir la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad α del receptor de IL-2 en por lo menos 30 veces, en por lo menos 50 veces o incluso en por lo menos 100 veces. En una realización, dicha mutación de aminoácido o combinación de mutaciones de aminoácidos elimina la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad α del receptor de IL-2 de manera que no resulta detectable ninguna unión mediante la resonancia de plasmón superficial tal como se describe posteriormente en la presente memoria.

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

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

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

En determinadas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante es esencialmente una molécula de IL-2 de longitud completa. En determinadas realizaciones, el

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

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

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

Un polipéptido IL-2 mutante particular según la invención comprende cuatro sustituciones de aminoácido en posiciones correspondientes a los residuos 3, 42, 45 y 72 de la IL-2 humana. Son sustituciones de aminoácidos específicas, T3A,

F42A, Y45A y L72G. Tal como se demuestra en los Ejemplos adjuntos, dicho polipéptido IL-2 mutante cuádruple no muestra unión detectable a CD25, una capacidad reducida de inducir apoptosis en células T, una capacidad reducida de inducir señalización de IL-2 en células T_{reg} y un perfil de toxicidad *in vivo* reducido. Sin embargo, conserva capacidad de activar la señalización de IL-2 en células efectoras, de inducir proliferación de las células efectoras y de generar IFN-γ como citoquina secundaria por parte de las células NK.

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

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

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

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

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

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

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

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

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, la invención proporciona además un polipéptido IL-2 mutante tal como se ha descrito anteriormente en la presente memoria, unido a por lo menos una fracción no IL-2. En una realización, el polipéptido IL-2 mutante y la fracción no IL-2 forman una proteína de fusión, es decir, el polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico con la fracción no

IL-2. En una realización, el polipéptido IL-2 mutante se une a una primera y una segunda fracciones no IL-2. En una realización, el polipéptido IL-2 mutante comprendido con la primera fracción de unión a antígeno un enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal y la segunda fracción de unión a antígeno comparte un enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal con i) el polipéptido IL-2 mutante, o ii) la primera fracción de unión a antígeno. En una realización específica, el polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico carboxiterminal con dicha primera fracción no IL-2 y un enlace peptídico aminoterminal con dicha segunda fracción no IL-2. En una realización, dicha fracción no IL-2 es una fracción de dianización. En una realización particular, dicha fracción no IL-2 es una fracción de unión a antígeno (formando, de esta manera, un inmunoconjugado con el polipéptido IL-2 mutante, tal como se describe en mayor detalle posteriormente). En determinadas realizaciones, la fracción de unión a antígeno es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo. En una realización, la fracción de unión a antígeno es un anticuerpo de longitud completa. En una realización, la fracción de unión a antígeno es una molécula de inmunoglobulina, particularmente una molécula de inmunoglobulina de clase IgG, más particularmente una molécula de inmunoglobulina de la subclase IgG_1. En una dichas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico aminoterminal con una de las cadenas pesadas de la inmunoglobulina. En otra realización, la fracción de unión a antígeno es un fragmento de anticuerpo. Entre algunas realizaciones, dicha fracción de unión a antígeno comprende un dominio de unión a antígeno de un anticuerpo, comprendiendo una región variable de cadena pesada de anticuerpo y una región variable de cadena ligera de anticuerpo. En una realización más específica, la fracción de unión a antígeno es una molécula Fab o una molécula scFv. En una realización particular, la fracción de unión a antígeno es una molécula Fab. En otra realización, la fracción ligante de antígeno es una molécula scFv. En una realización, dicha fracción de unión a antígeno se dirige a un antígeno presentado sobre una célula tumoral o en un ambiente de célula tumoral. En una realización preferente, dicho antígeno se selecciona de entre el grupo de la proteína de activación fibroblástica (FAP), el dominio A1 de la tenascina C (TNC A1), el dominio A2 de la tenascina C (TNC A2), el dominio B extra de la fibronectina (EDB), el antígeno carcinoembrionario (CEA) y el proteoglicano condroitín-sulfato asociado a melanoma (MCSP). En el caso de que el polipéptido IL-2 mutante se encuentre

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

Inmunoconjugados

En un aspecto particular, la invención proporciona un inmunoconjugado que comprende un polipéptido IL-2 mutante que comprende una o más mutaciones de aminoácidos que eliminan o reducen la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad α del receptor de IL-2 y conservan la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, y por lo menos una fracción

de unión a antígeno. En una realización según la invención, la mutación de aminoácido que elimina o reduce la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad α receptor de IL-2 de alta afinidad y conserva la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el receptor de IL-2 de afinidad intermedia, se encuentra en una posición seleccionada de entre las posiciones correspondientes a los residuos 42, 45 y 72 de la IL-2 humana. En una realización, dicha mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido. En una realización, dichas mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido seleccionada de entre el grupo de F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, Y45K, L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R y L72K, más concretamente, una sustitución de aminoácido seleccionada de entre el grupo de F42A, Y45A y L72G. En una realización, la mutación de aminoácido se encuentra en una posición correspondiente al residuo 42 de la IL-2 humana. En una realización específica, dicha mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido seleccionada de entre el grupo de F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R y F42. En una realización todavía más específica, dicha sustitución de aminoácido es F42A. En otra realización, dicha mutación de aminoácido se encuentra en una posición correspondiente al residuo 45 de la IL-2 humana. En una realización específica, dicha segunda mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido seleccionada de entre el grupo de Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R y Y45K. En una realización todavía más específica, dicha sustitución de aminoácido es Y45A. En todavía otra realización, la mutación de aminoácido se encuentra en una posición correspondiente al residuo 72 de la IL-2 humana. En una realización específica, dicha mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido seleccionada de entre el grupo de L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R y L72K. En una realización todavía más específica, dicha sustitución de aminoácido es L72G. En determinadas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante según la invención no comprende una mutación de aminoácido en una posición correspondiente al residuo 38 de la IL-2 humana. En una realización particular, el polipéptido IL-2 mutante comprendido en el inmunoconjugado de la invención comprende por lo menos una primera y una segunda mutaciones de aminoácidos que elimina o reduce la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para la subunidad α del receptor de IL-2 y conserva la afinidad del polipéptido IL-2 mutante para el

receptor de IL-2 de afinidad intermedia. En una realización, dichas primera y segunda mutaciones de aminoácidos se encuentran en dos posiciones seleccionadas de entre las posiciones correspondientes a los residuos 42, 45 y 72 de la IL-2 humana. En una realización, dichas primera y segunda mutaciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos. En una realización, dichas primera y segunda mutaciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos seleccionadas de entre el grupo de F42A, F42G, F42S, F42T, F42Q, F42E, F42N, F42D, F42R, F42K, Y45A, Y45G, Y45S, Y45T, Y45Q, Y45E, Y45N, Y45D, Y45R, Y45K, L72G, L72A, L72S, L72T, L72Q, L72E, L72N, L72D, L72R y L72K. En una realización particular, dichas primera y segunda mutaciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos seleccionadas de entre el grupo de F42A, Y45A y L72G. El polipéptido IL-2 mutante puede incorporar además cualquiera de las características, individualmente o en combinación, descritas en los párrafos anteriores en relación a los polipéptidos IL-2 mutantes de la invención. En una realización, dicho polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal con dicha fracción de unión a antígeno comprendida en el inmunoconjugado, es decir, el inmunoconjugado es una proteína de fusión. En determinadas realizaciones, la fracción de unión a antígeno es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo. Entre algunas realizaciones, dicha fracción de unión a antígeno comprende un dominio de unión a antígeno de un anticuerpo, comprendiendo una región variable de cadena pesada de anticuerpo y una región variable de cadena ligera de anticuerpo. La región de unión a antígeno puede incorporar cualquiera de las características, individualmente o en combinación, descritas en la presente memoria en relación a los dominios de unión a antígeno.

Formatos de inmunoconjugado

Los anticuerpos de inmunoconjugado particularmente adecuados se describen en la patente PCT nº WO 2011/020783, que se incorpora en la presente memoria como referencia en su totalidad. Estos inmunoconjugados comprenden por lo menos dos dominios de unión a antígeno. De esta manera, en un realización, el inmunoconjugado según la presente invención comprende por lo menos un primer polipéptido IL-2 mutante tal como se describe en la presente memoria, y por lo

menos una primera y una segunda fracciones de unión a antígeno. En una realización particular, dichas primera y segundas fracciones de unión a antígeno se seleccionan independientemente de entre el grupo que consiste de una molécula Fv, concretamente una molécula scFv, y una molécula Fab. En una realización específica, el primer polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal con dicha primera fracción de unión a antígeno y dicha segunda fracción de unión a antígeno comparte un enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal con i) el primer polipéptido IL-2 mutante, o ii) la primera fracción de unión a antígeno. En una realización particular, el inmunoconjugado consiste esencialmente un primer polipéptido IL-2 mutante y una primera y una segunda fracciones de unión a antígeno, unidas por una o más secuencias conectoras. Dichos formatos presentan la ventaja de que se unen con alta afinidad al antígeno diana (tal como un antígeno tumoral), sino únicamente la unión monomérica al receptor de IL-2, evitando de esta manera la dianización del inmunoconjugado a las células inmunológicas portadoras de receptores de IL-2 en otras localizaciones apartes del sitio diana. En una realización particular, un primer polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una primera fracción de unión a antígeno y comparte además un enlace peptídico aminoterminal con una segunda fracción de unión a antígeno. En otra realización, una primera fracción de unión a antígeno comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un primer polipéptido IL-2 mutante y comparte además un enlace peptídico aminoterminal con una segunda fracción de unión a antígeno. En otra realización, una primera fracción de unión a antígeno comparte un enlace peptídico aminoterminal con un primer polipéptido IL-2 mutante y comparte además un enlace peptídico carboxiterminal con una segunda fracción de unión a antígeno. En una realización particular, un polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una primera región variable de cadena pesada y comparte además un enlace peptídico aminoterminal con una segunda región variable de cadena pesada. En otra realización, un polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una primera región variable de cadena ligera y comparte además un enlace peptídico aminoterminal con una segunda región variable de cadena ligera. En otra realización, se une una primera región variable de cadena pesada o ligera mediante un enlace peptídico carboxiterminal a un primer polipéptido IL-2 mutante, y se une adicionalmente

mediante un enlace peptídico aminoterminal a una segunda región variable de cadena pesada o ligera. En otra realización, se une una primera región variable de cadena pesada o ligera mediante un enlace peptídico aminoterminal a un primer polipéptido IL-2 mutante, y se une adicionalmente mediante un enlace peptídico carboxiterminal a una segunda región variable de cadena pesada o ligera. En una realización, un polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una cadena pesada o ligera de un primer Fab y comparte además un enlace peptídico aminoterminal con una cadena pesada o ligera de un segundo Fab. En otra realización, una cadena pesada o ligera de un primer Fab comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un primer polipéptido IL-2 mutante y comparte además un enlace peptídico aminoterminal con una cadena pesada o ligera de un segundo Fab. En otras realizaciones, una cadena pesada o ligera de un primer Fab comparte un enlace peptídico aminoterminal con un primer polipéptido IL-2 mutante y comparte además un enlace peptídico carboxiterminal con una cadena pesada o ligera de un segundo Fab. En una realización, el inmunoconjugado comprende por lo menos un primer polipéptido IL-2 mutante que comparte un enlace peptídico aminoterminal con una o más moléculas scFv y que comparte además un enlace peptídico carboxiterminal con una o más moléculas scFv.

Otros formatos de inmunoconjugado particularmente adecuados comprenden una molécula de inmunoglobulina a modo de fracción de unión a antígeno. En una de dichas realizaciones, el inmunoconjugado comprende por lo menos un polipéptido IL-2 mutante tal como se describe en la presente memoria y una molécula de inmunoglobulina, concretamente una molécula de IgG, más concretamente una molécula de IgG_1. En una realización, el inmunoconjugado comprende no más de un polipéptido IL-2 mutante. En una realización, la molécula de inmunoglobulina es humana. En una realización, el polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico aminoterminal o carboxiterminal con la molécula de inmunoglobulina. En una realización, el inmunoconjugado consiste esencialmente de un polipéptido IL-2 mutante y una molécula de inmunoglobulina, concretamente una molécula de IgG, más concretamente una molécula de IgG_1, unida mediante una o más secuencias conectoras. En una realización específica, el polipéptido IL-2 mutante se encuentra unido en su aminoácido aminoterminal al aminoácido carboxiterminal de una de las

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

un puente disulfuro entre las dos cadenas pesadas, estabilizando adicionalmente el dímero (Carter, J. Immunol. Methods 248:7-15, 2001).

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

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

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

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, en determinadas realizaciones, la molécula de inmunoglobulina comprendida en el inmunoconjugado según la invención se manipula para que presente una afinidad de unión reducida para un receptor de Fc. En una de dichas realizaciones, la inmunoglobulina comprende en su dominio Fc una o más mutaciones de aminoácidos que reducen la afinidad de

unión del inmunoconjugado para un receptor de Fc. Típicamente, la misma o mismas mutaciones de aminoácidos se encuentran presentes en cada una de las dos cadenas pesadas de inmunoglobulina. En una realización, dicha mutación de aminoácido reduce la afinidad de unión del inmunoconjugado para el receptor de Fc en por lo menos 2 veces, en por lo menos 5 veces o en por lo menos 10 veces. En realizaciones en las que se produce más de una mutación de aminoácido que reduce la afinidad de unión del inmunoconjugado para el receptor de Fc, la combinación de estas mutaciones de aminoácidos puede reducir la afinidad de unión del dominio Fc para el receptor de Fc en por lo menos 10 veces, en por lo menos 20 veces o incluso en por lo menos 50 veces. En una realización, el inmunoconjugado que comprende una molécula de inmunoglobulina manipulada muestra una afinidad de unión para un receptor de Fc inferior a 20%, concretamente inferior a 10%, más concretamente inferior a 5% de la afinidad de unión de un inmunoconjugado que comprende una molécula de inmunoglobulina no manipulada. En una realización, el receptor de Fc es un receptor de Fc activador. En una realización específica, el receptor de Fc es un receptor de Fcγ, más concretamente un receptor FcγRIIIa, FcγRI o FcγRIIa. Preferentemente, la unión a cada uno de dichos receptores se encuentra reducida. En algunas realizaciones, la afinidad de unión a un componente de complemento, con afinidad de unión específica a C1q, también se encuentra reducida. En una realización, la afinidad de unión para el receptor de Fc neonatal (FcRn) no se encuentra reducida. Se consigue una unión sustancialmente similar a FcRn, es decir la conservación de la afinidad de unión de la inmunoglobulina a dicho receptor, en el caso de que la inmunoglobulina (o el inmunconjugado que comprende dicha inmunoglobulina) muestre una afinidad de unión superior a aproximadamente 70% de la afinidad de unión de una forma no manipulada de la inmunoglobulina (o del inmunoconjugado que comprende dicha forma no manipulada de la inmunoglobulina) para FcRn. Las inmunoglobulinas o inmunoconjugados que comprenden dichas inmunoglobulinas pueden mostrar una afinidad superior a aproximadamente 80% e incluso superior a aproximadamente 90% de dicha afinidad. En una realización, la mutación de aminoácido es una sustitución de aminoácido. En una realización, la inmunoglobulina comprende una sustitución de aminoácido en la posición P329 de la cadena pesada de inmunoglobulina (numeración Kabat). En una realización más específica, la sustitución de aminoácido es P329A o P329G, particularmente

P329G. En una realización, la inmunoglobulina comprende una sustitución de aminoácido adicional en una posición seleccionada de entre S228, E233, L234, L235, N297 y P332 de la cadena pesada de inmunoglobulina. En una realización más específica, la sustitución de aminoácido adicional es S228P, E233P, L234A, L235A, L235E, N297A, N297D o P331S En una realización particular, la inmunoglobulina comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones P329, L234 y L235 de la cadena pesada de inmunoglobulina. En una realización más particular, la inmunoglobulina comprende las mutaciones de aminoácidos L234A, L235A y P329G (LALA P329G). Esta combinación de sustituciones de aminoácidos elimina prácticamente por completo la unión del receptor Fcγ de una molécula IgG humana y por lo tanto reduce la función efectora, incluyendo la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC).

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

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

Fracciones de unión a antígeno

La fracción de unión a antígeno del 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 se une (por ejemplo un polipéptido IL-2 mutante o una segunda fracción de unión a antígeno) a un sitio diana, por ejemplo a un tipo específico de célula tumoral o estroma tumoral que porta el determinante antigénico. El inmunoconjugado puede unirse a

determinantes antigénicos presentes, por ejemplo, sobre las superficies de las células tumorales, sobre las superficies de las células infectadas por virus, sobre las superficies de otras células enfermas, libres en suero sanguíneo, y/o en la matriz extracelular (ECM).

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

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

Entre los ejemplos no limitativos de los antígenos de ECM se incluyen sindecan, 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 ejemplos no limitativos específicos siguientes de antígenos de superficie celular: FAP, Her2, EGFR, IGF-1R, CD2 (antígeno de superficie de células T), CD3 (heteromultímero asociado al TCR), CD22 (receptor de células B), CD23 (receptor de IgE de baja afinidad), CD30 (receptor de citoquina), CD33 (antígeno de superficie de célula mieloide), CD40 (receptor del factor de necrosis tumoral), IL-6R (receptor de IL6), CD20, MCSP y PDGFβR (receptor β del factor de crecimiento derivado de plaquetas).

En una realización, el inmunoconjugado de la invención comprende dos o más grupos de unión a antígeno, en los que cada uno de dichos grupos de unión a antígeno se une específicamente al mismo determinante antigénico. En otra realización, el inmunoconjugado de la invención comprende dos o más grupos de unión a antígeno, en los que cada uno de dichos grupos de unión a antígeno se une específicamente a diferentes determinantes antigénicos.

El grupo de unión a antígeno puede ser cualquier tipo de anticuerpo o fragmento del mismo que conserve la unión específica a un determinante antigénico. Entre los fragmentos de anticuerpo se incluyen, aunque sin limitación, fragmentos de V_H, fragmentos de V_L, fragmentos Fab, fragmentos $F(ab')_2$, fragmentos scFv, fragmentos Fv, minicuerpos, diacuerpos, triacuerpos y tetracuerpos (ver, por ejemplo, Hudson y Souriau, Nature Med. 9:129-134, 2003).

Las fracciones de unión a antígeno particularmente adecuados se describen en la patente PCT nº de publicación WO 2011/020783, que se incorpora en la presente memoria como referencia en su totalidad.

En una realización, el inmunoconjugado comprende por lo menos un grupo de unión a antígeno, típicamente dos o más, que son específicos para el dominio extra B de la fibronectina (EDB). En otra realización, el inmunoconjugado comprende por lo menos un grupo de unión a antígeno, típicamente dos o más, que pueden competir con el anticuerpo monoclonal L19 para la unión a un epítopo de EDB (ver, por ejemplo, la publicación de patente PCT nº WO 2007/128563 A1 (incorporada como referencia en la presente memoria en su totalidad)). En todavía otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una primera cadena pesada de Fab derivada del anticuerpo monoclonal L19

comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante que a su vez comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una segunda cadena pesada de Fab derivada del anticuerpo monoclonal L19. En todavía otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una primera cadena pesada de Fab derivada del anticuerpo monoclonal L19 comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante que a su vez comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una segunda cadena pesada de Fab derivada del anticuerpo monoclonal L19. En una realización adicional, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que un primer scFv derivado del anticuerpo monoclonal L19 comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante que a su vez comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un segundo scFv derivado del anticuerpo monoclonal L19.

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

En una realización, el inmunoconjugado de la invención comprende por lo menos un grupo de unión a antígeno, típicamente dos o más, que son específicos para el dominio A1 de la tenascina (TNC-A1). En otra realización, el inmunoconjugado comprende por lo menos un grupo de unión a antígeno, típicamente dos o más, que pueden competir con el anticuerpo monoclonal F16 para la unión a un epítopo de TNC-A1 (ver, por ejemplo, la publicación de patente PCT nº WO 2007/128563 A1

(incorporada en la presente memoria como referencia en su totalidad)). En una realización, el inmunoconjugado comprende por lo menos un grupo de unión a antígeno, típicamente dos o más que son específicos para el dominio A1 y/o A4 de la tenascina (TNC-A1 o TNC-A4 o TNC-A1/A4). En todavía otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una primera cadena pesada de Fab específica para el dominio A1 de la tenascina comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante que a su vez comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una segunda cadena pesada de Fab específica para el dominio A1 de la tenascina. En todavía otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una primera cadena ligera de Fab específica para el dominio A1 de la tenascina comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante que a su vez comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una segunda cadena pesada de Fab específica para el dominio A1 de la tenascina. En una realización adicional, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que un primer scFv específico para el dominio A1 de la tenascina comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante que a su vez comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un segundo scFv específico para el dominio A1 de la tenascina. En otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una cadena pesada de inmunoglobulina específica para TNC-A1 comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante.

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

pesada que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 33 ó a la secuencia SEC ID nº 35 ó variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia de región variable de cadena ligera que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 29 ó a la secuencia SEC ID nº 31 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad.

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

En una realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 203 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad. En otra realización específica, el inmunoconjugado de la invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 205 ó a la secuencia SEC ID nº 215, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En todavía otra realización específica, el inmunoconjugado de la invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%,

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

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

En una realización, el inmunoconjugado comprende por lo menos un grupo de unión a antígeno, típicamente dos o más que son específicos para el dominio A2 de la tenascina (TNC-A2). En otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una primera cadena pesada de Fab específica

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

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

99% ó 100% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de las secuencias SEC ID nº 23, SEC ID nº 25, SEC ID nº 157, SEC ID nº 161, SEC ID nº 165, SEC ID nº 169, SEC ID nº 173, SEC ID nº 177, SEC ID nº 181 y SEC ID nº 185, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad.

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

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

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

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

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

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

En una realización específica, los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena pesada que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de secuencias SEC ID nº 41, SEC ID nº 45, SEC ID nº 47, SEC ID nº 51, SEC ID nº 55, SEC ID nº 59, SEC ID nº 63, SEC ID nº 67, SEC ID nº 71, SEC ID nº 75, SEC ID nº 79, SEC ID nº 83, SEC ID nº 87, SEC ID nº 91, SEC ID nº 95, SEC ID nº 99, SEC ID nº 103, SEC ID nº 107, SEC ID nº 111, SEC ID nº 115, SEC ID nº 119, SEC ID nº 123, SEC ID nº 127, SEC ID nº 131, SEC ID nº 135, SEC ID nº 139, SEC ID nº 143,

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

de cadena ligera SEC ID nº 39. En una realización, las fracciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden la secuencia de región variable de cadena pesada SEC ID nº 51 y la región variable de cadena ligera SEC ID nº 49. En una realización, las fracciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden la secuencia de región variable de cadena pesada SEC ID nº 111 y la región variable de cadena ligera SEC ID nº 109. En una realización, las fracciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden la secuencia de región variable de cadena pesada SEC ID nº 143 y la región variable de cadena ligera SEC ID nº 141. En una realización, las fracciones de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden la secuencia de región variable de cadena pesada SEC ID nº 151 y la región variable de cadena ligera SEC ID nº 149.

En otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena pesada de los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado se encuentra codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo que consiste de las secuencias: SEC ID nº 42, SEC ID nº 46, SEC ID nº 48, SEC ID nº 52, SEC ID nº 56, SEC ID nº 60, SEC ID nº 64, SEC ID nº 68, SEC ID nº 72, SEC ID nº 76, SEC ID nº 80, SEC ID nº 84, SEC ID nº 88, SEC ID nº 92, SEC ID nº 96, SEC ID nº 100, SEC ID nº 104, SEC ID nº 108, SEC ID nº 112, SEC ID nº 116, SEC ID nº 120, SEC ID nº 124, SEC ID nº 128, SEC ID nº 132, SEC ID nº 136, SEC ID nº 140, SEC ID nº 144, SEC ID nº 148, SEC ID nº 152, y SEC ID nº 156. En todavía otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena pesada de los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado se encuentra codificada por una secuencia polinucleótida seleccionada de entre el grupo que consiste de las secuencias: SEC ID nº 42, SEC ID nº 46, SEC ID nº 48, SEC ID nº 52, SEC ID nº 56, SEC ID nº 60, SEC ID nº 64, SEC ID nº 68, SEC ID nº 72, SEC ID nº 76, SEC ID nº 80, SEC ID nº 84, SEC ID nº 88, SEC ID nº 92, SEC ID nº 96, SEC ID nº 100, SEC ID nº 104, SEC ID nº 108, SEC ID nº 112, SEC ID nº 116, SEC ID nº 120, SEC ID nº 124, SEC ID nº 128, SEC ID nº 132, SEC ID nº 136, SEC ID nº 140, SEC ID nº 144, SEC ID nº 148, SEC ID nº 152, y SEC ID nº 156. En otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena ligera de los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado se encuentra codificada por una secuencia polinucleótida que

es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo que consiste de las secuencias: SEC ID nº 38, SEC ID nº 40, SEC ID nº 44, SEC ID nº 50, SEC ID nº 54, SEC ID nº 58, SEC ID nº 62, SEC ID nº 66, SEC ID nº 70, SEC ID nº 74, SEC ID nº 78, SEC ID nº 82, SEC ID nº 86, SEC ID nº 90, SEC ID nº 94, SEC ID nº 98, SEC ID nº 102, SEC ID nº 106, SEC ID nº 110, SEC ID nº 114, SEC ID nº 118, SEC ID nº 122, SEC ID nº 126, SEC ID nº 130, SEC ID nº 134, SEC ID nº 138, SEC ID nº 142, SEC ID nº 146, SEC ID nº 150, y SEC ID nº 154. En todavía otra realización específica, la secuencia de región variable de cadena ligera de los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado se encuentra codifciada por una secuencia polinucleótida seleccionada de entre el grupo que consiste de las secuencias: SEC ID nº 38, SEC ID nº 40, SEC ID nº 44, SEC ID nº 50, SEC ID nº 54, SEC ID nº 58, SEC ID nº 62, SEC ID nº 66, SEC ID nº 70, SEC ID nº 74, SEC ID nº 78, SEC ID nº 82, SEC ID nº 86, SEC ID nº 90, SEC ID nº 94, SEC ID nº 98, SEC ID nº 102, SEC ID nº 106, SEC ID nº 110, SEC ID nº 114, SEC ID nº 118, SEC ID nº 122, SEC ID nº 126, SEC ID nº 130, SEC ID nº 134, SEC ID nº 138, SEC ID nº 142, SEC ID nº 146, SEC ID nº 150, y SEC ID nº 154.

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

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

En todavía otra realización específica, el inmunoconjugado de la presente invención comprende dos secuencias polipeptídicas que son por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idénticas a la secuencia SEC ID nº 227 y SEC ID nº 231 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad. En todavía otra realización específica, el inmunoconjugado de la presente invención comprende dos secuencias polipeptídicas que son por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idénticas a la secuencia SEC ID nº 229 y SEC ID nº 231 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad. En todavía otra realización específica, el inmunoconjugado de la presente invención comprende dos secuencias polipeptídicas que son por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idénticas a la secuencia SEC ID nº 211 y SEC ID nº 233 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad.

En otra realización específica, el inmunoconjugado de la invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de las secuencias SEC ID nº 297, SEC ID nº 301 y SEC ID nº 315, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En todavía otra realización específica, el inmunoconjugado de la invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de las secuencias SEC ID nº 299, SEC ID nº 303 y SEC ID nº 317, o variantes de las mismas que conservan funcionalidad. En una realización más específica, el inmunoconjugado de la presente invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a SEC ID nº 297 ó variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a SEC ID nº 299 ó variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a SEC ID nº 233 ó una variante de la misma que conserva funcionalidad. En otra realización específica, el inmunoconjugado de la presente invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a

la secuencia SEC ID nº 301 ó variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a SEC ID nº 303 ó variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a SEC ID nº 231 ó una variante de la misma que conserva funcionalidad. En todavía otra realización específica, el inmunoconjugado de la presente invención comprende una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a SEC ID nº 315 ó variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a SEC ID nº 317 ó variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a SEC ID nº 233 ó una variante de la misma que conserva funcionalidad.

En otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de las secuencias SEC ID nº 210, SEC ID nº 212, SEC ID nº 214, SEC ID nº 218, SEC ID nº 220, SEC ID nº 222, SEC ID nº 224, SEC ID nº 226, SEC ID nº 228, y SEC ID nº 230. En todavía otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleótida seleccionada de entre el grupo de SEC ID nº 210, SEC ID nº 212, SEC ID nº 214, SEC ID nº 218, SEC ID nº 220, SEC ID nº 222, SEC ID nº 224, SEC ID nº 226, SEC ID nº 228, y SEC ID nº 230. En otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleótida que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a una secuencia seleccionada de entre el grupo de las secuencias SEC ID nº 232, SEC ID nº 234, SEC ID nº 236, y SEC ID nº 240. En todavía otra realización específica, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica codificada por una secuencia polinucleótida seleccionada de entre el grupo de SEC ID nº 232, SEC ID nº 234, SEC ID nº 236, y SEC ID nº 240.

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

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

En una realización específica, los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena pesada que es por lo

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

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

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

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

polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 257 ó variantes de las mismas que conservan funcionalidad, y una secuencia polipeptídica que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 255 ó variantes de la misma que conservan funcionalidad.

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

En una realización, el inmunoconjugado comprende por lo menos un grupo de unión a antígeno, típicamente dos o más, que son específicos para el antígeno carcinoembrionario (CEA).

En otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una primera cadena pesada de Fab específica para CEA comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante que a su vez comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una segunda cadena pesada de Fab específica para CEA. En todavía otra realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una primera cadena pesada de Fab específica para CEA comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante que a su vez comparte un enlace peptídico carboxiterminal con una segunda cadena pesada de Fab específica para CEA. En una realización, el inmunoconjugado comprende una secuencia polipeptídica en la que una cadena

pesada de inmunoglobulina específica para CEA comparte un enlace peptídico carboxiterminal con un polipéptido IL-2 mutante. En una realización específica, los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena pesada que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 313 ó una variante de la misma que conserva funcionalidad. En otra realización específica, los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena ligera que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 311 ó una variante de la misma que conserva funcionalidad. En una realización más específica, los grupos de unión a antígeno del inmunoconjugado comprenden una secuencia de región variable de cadena pesada que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 313 ó una variante de las mismas que conserva funcionalidad, y una secuencia de región variable de cadena ligera que es por lo menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ó 100% idéntica a la secuencia SEC ID nº 311 ó una variante de la misma que conserva funcionalidad.

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

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

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

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

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

Polinucleótidos

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

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

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

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

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

Los polinucleótidos codificantes de inmunoconjugados de la invención pueden expresarse a partir de un único polinucleótido que codifica el inmunoconjugado completo o a partir de múltiples polinucleótidos (por ejemplo dos o más) que se coexpresan. Los polipéptidos codificados por polinucleótidos que se coexpresan pueden asociarse mediante, por ejemplo, enlaces disulfuro u otros medios para formar un inmunoconjugado funcional. Por ejemplo, la parte de cadena pesada de

una fracción de unión a antígeno puede encontrarse codificada por un polinucleótido separado de una parte del inmunoconjugado que comprende la parte de cadena ligera de la fracción de unión a antígeno y el polipéptido IL-2 mutante. Al coexpresarse, los polipéptidos de cadena pesada se asocian con los polipéptidos de cadena ligera formando la fracción de unión a antígeno. Alternativamente, en otro ejemplo, la parte de cadena ligera de una fracción de unión a antígeno puede encontrarse codificada por un polinucleótido separado de una parte del inmunoconjugado que comprende la parte de cadena pesada de la fracción de unión a antígeno y el polipéptido IL-2 mutante. En una realización, un polinucleótido aislado de la invención codifica un fragmento de un inmunoconjugado que comprende un polipéptido IL-2 mutante y una fracción de unión a antígeno. En una realización, un polinucleótido aislado de la invención codifica la cadena pesada de una fracción de unión a antígeno y un polipéptido IL-2 mutante. En otra realización, un polinucleótido aislado de la invención codifica la cadena ligera de una fracción de unión a antígeno y un polipéptido IL-2 mutante.

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

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

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

En otra realización, un polinucléotido aislado de la invención codifica un fragmento de un inmunoconjugado, en el que el polinucleótido codifica la cadena pesada de una molécula de inmunoglobulina, concretamente una molécula de IgG, más concretamente una molécula de IgG_1, y un polipéptido IL-2 mutante. En una realización más específica, el polinucleótido aislado codifia la cadena pesada de una molécula de inmunoglobulina y un polipéptido IL-2 mutante, en el que el polipéptido IL-2 mutante comparte un enlace peptídico aminoterminal con la cadena pesada de inmunoglobulina.

En otra realización, la presente invención se refiere a un polinucleótido aislado codificante de un inmunoconjugado o fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia codificante de una secuencia de región variable tal como se muestra en SEC ID nº 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 231, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 311 ó 313. En otra realización, la presente invención se refiere a un polinucléotido aislado codificante de un inmunoconjugado o

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

143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 311 or 313. En otra realización, la invención se refiere a un polinucleótido aislado codificante de un inmunoconjugado o fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia que codifica una secuencia polipeptídica que es por lo menos 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% ó 99% idéntica a una secuencia de aminoácidos de SEC ID nº 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 297, 299, 301, 303, 315, 317, 319, 321 or 323. La invención comprende un polinucleótido aislado codificante de un inmunoconjugado o fragmento del mismo, en el que el polinucleótido comprende una secuencia que codifica las secuencias de región variable SEC ID nº 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 231, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 311 ó 313 con sustituciones conservadoras de aminoácidos. La invención también comprende un polinucleótido aislado codificante de un inmunoconjugado de la invención o fragmento del mismo, en el que el polinucléotido comprende una secuencia que codifica las secuencias polipeptídicas SEC ID nº 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 297, 299, 301, 303, 315, 317, 319, 321 ó 323 con sustituciones conservadoras de aminoácidos.

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

Métodos recombinantes

Las moléculas de IL-2 mutante de la invención pueden prepararse mediante deleción, sustitución, inserción o modificación utilizando métodos genéticos o químicos bien conocidos de la técnica. Entre los métodos genéticos pueden

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

Los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención pueden obtenerse, por ejemplo, mediante síntesis peptídica de estado sólido o producción recombinante. Para la producción recombinante se aíslan uno o más polinucleótidos codificantes de dicho polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado (fragmento), por ejemplo tal como se ha descrito anteriormente, y se insertan en uno o más vectores para la clonación y/o expresión posteriores en una célula huésped. Dichos polinucléotidos pueden aislarse fácilmente y secuenciarse utilizando procedimientos convencionales. En una realización, se proporciona un vector, preferentemente un vector de expresión, que comprende uno o más de los polinucleótidos de la invención. Pueden utilizarse métodos que son bien conocidos por el experto en la materia para construir vectores de expresión que contienen la secuencia codificante de un polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado (fragmento) conjuntamente con señales apropiadas de control transcripcional/traduccional. Entre dichos métodos se incluyen técnicas de ADN recombinante *in vitro*, técnicas sintéticas y la recombinación *in vivo*/recombinación genética. Ver, por ejemplo, las técnicas descritas en Maniatis *et al.*, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y., 1989, y en Ausubel *et al.*, CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y., 1989. El vector de expresión puede ser parte de un plásmido, un virus o puede ser un fragmento de ácido nucleico. El vector de expresión incluye un casete de expresión en el que el polinucleótido codificante de la IL-2 mutante o del inmunoconjugado (fragmento) (es decir, la

región codifiante) se clona en asociación operable con un promotor y/o otros elementos de control de la transcripción o traducción. Tal como se utiliza en la presente memoria, una "región codificante" es una parte de un ácido nucleico que consiste de codones traducidos en aminoácidos. Aunque un "codón de parada" (TAG, TGA o TAA) no se traduce en un aminoácido, puede considerarse parte de una región codificante, en caso de encontrarse presente, mientras que cualquier secuencia flanqueante, por ejemplo promotores, sitios de unión ribosómica, terminadores de transcripción, intrones, regiones 5' y 3' no traducidas y similares, no forman parte de una región codificante. Pueden encontrarse presentes dos o más regiones codificantes en un único constructo polinucleótido, por ejemplo en un único vector, o en constructos polinucleótidos separados, por ejemplo en vectores separados (diferentes). Además, cualquier vector puede contener una única región codificante, o puede comprender dos o más regiones codificantes, por ejemplo un vector de la presente invención puede codificar una o más poliproteínas que se separan post-traduccionalmente o durante la traducción en las proteínas finales mediante corte proteolítico. Además, un vector, polinucleótido o ácido nucleico de la invención puede codificar regiones codificantes heterólogas, fusionadas o no fusionadas con un primer o segundo polinucleótido codificante de los polipéptidos de la invención, o de una variante o derivado de los mismos. Entre las regiones codificantes heterólogas se incluyen, aunque sin limitación, elementos especializados o motivos, tales como un péptido de señal secretoria o un dominio funcional heterólogo. Se establece una asociación operable en el caso de que una región codificante de un producto génico, por ejemplo un polipéptido, se asocie a una o más secuencias reguladoras de manrea que la expresión del producto génico quede bajo la influencia o control de la secuencia o secuencias reguladoras. Dos fragmentos de ADN (tal como una región codificante de un polipéptido y un promotor asociado a la misma) se encuentran "operablemente asociados" en el caso de que la inducción de la función del promotor resulte en la transcripción del ARNm codificante del producto génico deseado y en el caso de que la naturaleza del enlace entre los dos fragmentos de ADN no interfiera con la capacidad de las secuencias reguladoras de la expresión de dirigir la expresión del producto génico o interfiera con la capacidad del molde de ADN de ser transcrito. De esta manera, una región promotora se encuentra operablemente asociada a un ácido nucleico codificante de un polipéptido en el caso de que el promotor sea capaz de llevar a

cabo la transcripción de dicho ácido nucleico. El promotor puede ser un promotor específico de tipo celular que dirige la transcripción sustancial del ADN únicamente en células predeterminadas. Otros elementos de control de la transcripción, aparte de un promotor, por ejemplo intensificadores, operadores, represores y señales de terminación de la transcripción, pueden asociarse operablemente con el polinucleótido para dirigir la transcripción específica de tipo celular. En la presente memoria se dan a conocer promotores adecuados y otras regiones de control de la transcripción. El experto en la materia conoce una diversidad de regiones de control de la transcripción. Entre ellas se incluyen, aunque sin limitación, regiones de control de la transcripción, que funcionan en células de vertebrado, tales como, aunque sin limitación, segmentos promotores e intensificadores procedentes de citomegalovirus (por ejemplo el promotor temprano inmediato conjuntamente con el intrón A), el virus 40 del simio (por ejemplo el promotor temprano) y retrovirus (tales como, por ejemplo, el virus del sarcoma de Rous). Entre otras regiones de control de la transcripción se incluyen aquéllas derivadas de genes de vertebrado, tales como actina, proteína de choque térmico, hormona del crecimiento bovina y β-globina de conejo, así como otras secuencias capaces de controlar la expresión génica en células eucarióticas. Entre las regiones adecuadas adicionales de control de la transcripción se incluyen promotores e intensificadores específicos de tejido, así como promotores inducibles (por ejemplo promotores inducibles con tetraciclina). De manera similar, el experto ordinario en la materia conocerá una diversidad de elementos de control de la traducción. Entre ellos se incluyen, aunque sin limitación, sitios de unión ribosómica, codones de inicio y terminación de la traducción, y elementos derivados de sistemas víricos (particularmente un sitio interno de entrada ribosómica, o IRES, también denominado secuencia CITE). El casete de expresión también puede incluir otras características, tales como un origen de replicación y/o elementos de integración cromosómica, tales como repeticiones terminales largas retrovíricas (LTRs) o repeticiones terminales invertidas (ITRs) víricas adenoasociadas (AAV). Las regiones codificantes polinucleótidas y de ácidos nucleicos de la presente invención pueden encontrarse asociadas a regiones codificantes adicionales que codifiquen péptidos secretorios o de señal, que dirigen la secreción de un polipéptido codificado por un polinucleótido de la presente invención. Por ejemplo, en el caso de que se desee la secreción del polipéptido IL-2 mutante, el ADN codificante de una secuencia de señal puede

situarse cadena arriba del ácido nucleico codificante de los aminoácidos maduros de la IL-2 mutante. Lo mismo resulta aplicable a los inmunoconjugados de la invención o a fragmentos de los mismos. Según la hipótesis de la señal, las proteínas secretadas por las células de mamífero presentan un péptido de señal o una secuencia líder secretoria que se corta de la proteína madura tras iniciarse la exportación de la cadena proteica en crecimiento a través del retículo endoplasmástico rugoso. El experto ordinario en la materia conocerá que los polipéptidos secretados por las células de vertebrado generalmente presentan un péptido de señal fusionado al extremo N-terminal del polipéptido, que es cortado del polipéptido traducido para producir una forma secretada o "madura" del polipéptido. Por ejemplo, la IL-2 humana se traduce con una secuencia de señal de 20 aminoácidos en el extremo N-terminal del polipéptido, que posteriormente se escinde para producir la IL-2 humana madura de 133 aminoácidos. En determinadas realizaciones se utiliza el péptido de señal nativo, por ejemplo el péptido de señal IL-2 ó un péptido de señal de cadena pesada o ligera, o un derivado funcional de dicha secuencia que conserva la capacidad de dirigir la secreción del polipéptido que se encuentra operablemente asociado a ella. Alternativamente, puede utilizarse un péptido de señal heterólogo de mamífero, o un derivado funcional del mismo. Por ejemplo, puede sustituirse la secuencia líder de tipo salvaje por la secuencia líder del activador del plasminógeno tisular (TPA) humano o de la β-glucuronidasa de ratón. Se muestran secuencias ejemplares de aminoácidos y polinucleótidas de péptidos de señal secretoria en SEC ID nº 236 a 273. El ADN codificante de una secuencia corta de proteína que podría utilizarse para facilitar la posterior purificación (por ejemplo una etiqueta de histidinas) o asistir en el marcaje del mutante o inmunoconjugado de IL-2 puede incluirse dentro del polinucleótido codificante del mutante o inmunoconjugado (fragmento) de IL-2 ó en los extremos del mismo.

En una realización adicional, se proporciona una célula huésped que comprende uno o más polinucleótidos de la invención. En determinadas realizaciones, se proporciona una célula huésped que comprende uno o más vctores de la invención. Los polinucleótidos y vectores pueden incorporar cualquiera de las características, individualmente o en combinación, descritas en la presente memoria en relación a los polinucleótidos y vectores, respectivamente. En una de dichas realizaciones,

una célula huésped comprende (por ejemplo ha sido transformada o transfectada) un vector que comprende un polinucleótido que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende el polipéptido IL-2 mutante de la invención. Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "célula huésped" se refiere a cualquier tipo de sistema celular que pueda manipularse para generar los polipéptidos o inmunoconjugados de IL-2 mutante de la invención o fragmentos de los mismos. Las células huésped adecuadas para la replicación y para proporcionar soporte a la expresión de polipéptidos o inmunoconjugados de IL-2 mutante son bien conocidas de la técnica. Dichas células pueden transfectarse o transducirse según resulte apropiado con el vector de expresión particular y pueden cultivarse grandes cantidades de células que contienen el vector para la siembra de fermentadores a gran escala con el fin de obtener cantidades suficientes del mutante o inmunoconjugado de IL-2 para aplicaciones clínicas. Entre las células huésped adecuadas se incluyen los microorganismos procarióticos, tales como *E. coli*, o diversas células eucarióticas, tales como células de ovario de hámster chino (CHO), células de insecto, y similares. Por ejemplo, pueden producirse polipéptidos en bacterias, en particular en el caso de que no resulte necesaria la glucosilación. Tras la expresión, puede aislarse el polipéptido a partir de la pasta de células bacterianas en una fracción soluble y puede purificarse adicionalmente. Además de procariotas, algunos microbios eucarióticos tales como hongos filamentosos o levaduras son huéspedes de clonación o de expresión adecuados para los vectores codificantes de polipéptidos, incluyendo cepas de hongos y de levaduras cuyas rutas de glucosilación han sido "humanizadas", resultando en la producción de un polipéptido con un patrón de glucosilación parcial o totalmente humano. Ver Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414, 2004, y Li *et al.*, Nat. Biotech. 24:210-215, 2006. Las células huésped adecuadas para la expresión de polipéptidos (glucosilados) también se derivan a partir de organismos multicelulares (invertebrados y vertebrados). Entre los ejemplos de células de invertebrado se incluyen las células vegetales y de insecto. Se han identificado numerosas cepas baculovíricas que pueden utilizarse conjuntamente con células de insecto, particularmente para la transfección de células de *Spodoptera frugiperda*. También pueden utilizarse cultivos de células vegetales como huéspedes. Ver, por ejemplo, las patentes US nº 5.959.177, nº 6.040.498, nº 6.420.548, nº 7.125.978 y nº 6.417.429 (que describen la tecnología PLANTIBODIES™ para la producción de

anticuerpos en plantas transgénicas). También pueden utilizarse células de vetebrado como huéspedes. Por ejemplo, pueden resultar útiles líneas celulares de mamífero adaptadas para el crecimiento en suspensión. Otros ejemplos de líneas celulares huésped de mamífero que resultan útiles son la línea CV1 de riñón de mono transformada por SV40 (COS-7), la línea renal embrionaria humana (células 293 ó 293T descritas en, por ejemplo, Graham *et al.*, J. Gen. Virol. 36:59, 1977), las células renales de hámster neonato (BHK), las células de Sertoli de ratón (células TM4 tal como se describen en, por ejemplo, Mather, Biol. Reprod. 23:243-251, 1980), las células de riñón de mono (CV1), las células renales de mono verde africano (VERO-76), las células de carcinoma cervical humano (HELA), las células renales caninas (MDCK), las células hepáticas de rata búfalo (BRL 3A), las células pulmonares humanas (W138), las células hepáticas humanas (Hep G2), las células de tumor mamario de ratón (MMT 060562), las células TRI (tal como se describe en, por ejemplo, Mather *et al.*, Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68, 1982), las células MRC 5 y las células FS4. Entre otras líneas celulares huésped de mamífero que resultan útiles se incluyen las células de ovario de hámster chino (CHO), incluyendo las células CHO $dhfr^-$ (Urlaub *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216, 1980) y las líneas celulares de mieloma tales como Y0, NS0 y Sp2/0. Para una revisión de determinadas líneas celulares huésped de mamífero adecuadas para la producción de proteínas ver, por ejemplo, Yazaki y Wu, Methods in Molecular Biology, vol. 248 (B.K.C. Lo, editor, Humana Press, Totowa, NJ), páginas 255-268 (2003). Entre las células huésped se incluyen las células en cultivo, por ejemplo células de mamífero en cultivo, células de levadura, células de insecto, células bacterianas y células vegetales, entre otras, aunque también células comprendidas en un animal transgénico, planta transgénica o tejido vegetal o animal en cultivo. En una realización, la célula huésped es una célula eucariótica, particularmente una célula de mamífero, por ejemplo una célula de ovario de hámster chino (CHO), una célula renal embrionaria (HEK) o una célula linfoide (por ejemplo células Y0, NS0 ó Sp20).

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

expresado sea un anticuerpo que presente tanto una cadena pesada como una cadena ligera.

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

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

El polipéptido IL-2 mutante también puede unirse a múltiples moléculas del mismo tipo o a más de un tipo de molécula. En determinadas realizaciones, la molécula que se une a IL-2 puede proporcionar la capacidad de dirigir la IL-2 a tejidos o células específicos en un animal y se denomina en la presente memoria "fracción de dianización". En estas realizaciones, la fracción de dianización puede presentar afinidad para un ligando o receptor en el tejido o célula diana, dirigiendo de esta manera la IL-2 al tejido o célula diana. En una realización particular, la fracción de

dianización dirige la IL-2 a un tumor. Entre las fracciones de dianización se incluyen, por ejemplo, las fracciones de unión a antígeno (por ejemplo anticuerpos y fragmentos de los mismos) específicos para proteínas de superficie celular o intracelular, ligandos de receptores biológicos, y similares. Dichas fracciones de unión a antígeno pueden ser específicas para antígenos asociados a tumor, tales como las indicadas en la presente memoria.

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

químicamente de manera que las dos pueden conjugarse en una reacción separada, como también es bien conocido de la técnica.

En determinadas realizaciones, el polipéptido IL-2 mutante se une a una o más fracciones de unión a antígeno (es decir, es parte de un inmunoconjugado) que comprenden por lo menos una región variable de anticuerpo capaz de unirse a un determinante antigénico. Las regiones variables pueden formar parte y derivarse de anticuerpos naturales o no naturales y de fragmentos de los mismos. Los métodos para producir anticuerpos policlonales y monoclonales son bien conocidos de la técnica (ver, por ejemplo, Harlow y Lane, "Antibodies, a laboratory manual", Cold Spring Harbor Laboratory, 1988). Pueden construirse anticuerpos no naturales utilizando la síntesis peptídica en fase sólida, mediante recombinación (por ejemplo tal como se describe en la patente US nº 4.186.567) o pueden obtenerse mediante, por ejemplo, cribado de bibliotecas combinatoriales que comprenden cadenas pesadas variables y cadenas ligeras variables (ver, por ejemplo, la patente US nº 5.969.108, de McCafferty). Los inmunoconjugados, las fracciones de unión a antígeno y los métodos para producirlos también se describen en detalle en la publicación de patente PCT nº WO 2011/020783, el contenido completo de la cual se incorpora en la presente memoria como referencia.

Puede unirse un anticuerpo, fragmento de anticuerpo, dominio de unión a antígeno o región variable de cualquier especie animal a un polipéptido IL-2 mutante. Los anticuerpos, fragmentos de anticuerpo, dominios de unión a antígeno o regiones variables no limitativos que resultan útiles en la presente invención pueden ser de origen murino, de primate o humano. En el caso de que el conjugado o fusión de IL-2 mutante/anticuerpo esté destinado al uso humano, puede utilizarse una forma quimérica del anticuerpo en la que las regiones constantes del anticuerpo proceden de un ser humano. También puede prepararse una forma humanizada o totalmente humana del anticuerpo según métodos bien conocidos de la técnica (ver, por ejemplo, la patente US nº 5.565.332, de Winter). La humanización puede conseguirse mediante diversos métodos, entre ellos: (a) injertar las CDRs no humanas (por ejemplo del anticuerpo donante) en regiones de marco y constantes humanas (por ejemplo del anticuerpo receptor) con o sin conservación de los residuos de marco críticos (por ejemplo aquellos que resultan importantes para

conservan una buena afinidad de unión a antígeno o las funciones del anticuerpo), (b) injertar únicamente las regiones determinantes de especificidad no humanas (SDRs o CDRs-a, los residuos críticos para la interacción de anticuerpo-antígeno) en regiones de marco y constantes humanas, o (c) trasplantar los dominios variables no humanos completos, aunque "recubriéndolos" con una sección de tipo humano mediante sustitución de los residuos de superficie. Los anticuerpos humanizados y los métodos de preparación de los mismos se revisan, por ejemplo, en Almagro y Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633, 2008, y se describen adicionalmente en, por ejemplo, Riechmann *et al.*, Nature 332:323-329, 1988; Queen *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:10029-10033, 1989; patentes US nº 5.821.337, nº 7.527.791, nº 6.982.321 y nº 7.087.409; Jones *et al.*, Nature 321:522-525, 1986; Morrison *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. 81:6851-6855, 1984; Morrison y Oi, Adv. Immunol. 44:65-92, 1988; Verhoeyen *et al.*, Science 239:1534-1536, 1988; Padlan, Molec. Immun. 31(3):169-217, 1994; Kashmiri *et al.*, Methods 36:25-34, 2005 (que describe la injertación de SDR (CDR-a)); Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498, 1991 (que describe la "resuperficialización"); Dall'Acqua *et al.*, Methods 36:43-60, 2005 (que describe la "reorganización de FRs") y Osbourn *et al.*, Methods 36:61-68, 2005, y Klimka *et al.*, Br. J. Cancer 83:252-260, 2000 (que describe el enfoque de "selección guiada" a la reorganización de FRs). Pueden producirse anticuerpos humanos y regiones variables humanas utilizando diversos métodos conocidos de la técnica. Los anticuerpos humanos se describen de manera general en van Dijk y van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5:368-74, 2001, y en Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459, 2008. Las regiones variables humanas pueden formar parte y derivarse a partir de anticuerpos monoclonales humanos preparados mediante el método del hibridoma (ver, por ejemplo, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, páginas 51 a 63 (Marcel Dekker Inc., New York, 1987). También pueden prepararse anticuerpos humanos y regiones variables humanas mediante la administración de un inmunógeno a un animal transgénico que ha sido modificado para producir anticuerpos humanos intactos o anticuerpos intactos con regiones variables humanas en respuesta al reto antigénico (ver, por ejemplo, Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125, 2005). También pueden generarse anticuerpos humanos y regiones variables humanas mediante aislamiento de las secuencias de región variable de un clon de Fv seleccionadas de bibliotecas de expresión fágica derivadas de seres humanos (ver, por ejemplo,

Hoogenboom *et al.*, Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien *et al.*, editor, Human Press, Totowa, NJ, 2001, y McCafferty *et al.*, Nature 348:552-554; Clackson *et al.*, Nature 352:624-628, 1991). Los fagos típicamente expresan fragmentos de anticuerpo, en forma de fragmentos monocatenarios de Fv (scFv) o en forma de fragmentos Fab. Puede encontrarse una descripción detallada de la preparación de fracciones de unión a antígeno para inmunoconjugados mediante expresión fágica en los Ejemplos adjuntos a la publicación de patente PCT nº WO 2011/020783.

En determinadas realizaciones, las fracciones de unión a antígeno que resultan útiles en la presente invención se manipulan para que presenten una afinidad de unión incrementada de acuerdo con, por ejemplo, los métodos dados a conocer en la publicación de patente PCT nº WO 2011/0208783 (ver los Ejemplos referentes a la maduración de la afinidad) o la solicitud publicada de patente US nº 2004/0132066, el contenido completo de la cual se incorpora como referencia en la presente memoria. La capacidad del inmunoconjugado de la invención de unirse a un determinante antigénico específico puede medirse mediante un ensayo de inmunosorción ligada a enzima (ELISA) u otras técnicas que resultarán familiares al experto en la materia, por ejemplo la técnica de resonancia del plasmón superficial (analizada en un sistema BIACORE T100) (Liljeblad *et al.*, Glyco. J. 17:323-329, 2000) y ensayos de unión tradicionales (Heeley R.P., Endocr. Res. 28:217-229, 2002). Pueden utilizarse ensayos de competición para identificar un anticuerpo, fragmento de anticuerpo, dominio de unión a antígeno o dominio variable que compita con un anticuerpo de referencia para la unión a un antígeno particular, por ejemplo un anticuerpo que compita con el anticuerpo L19 para la unión al dominio B extra de la fibronectina (EDB). En determinadas realizaciones, dicho anticuerpo competidor se une al mismo epítopo (por ejemplo un epítopo lineal o conformacional) al que se une el anticuerpo de referencia. Se proporcionan métodos ejemplares detallados para la localización de un epítopo al que se une un anticuerpo en Morris, "Epitope Mapping Protocols", en: Methods in Molecular Biology, vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ), 1996. En un ensayo de competición ejemplar, se incuba antígeno inmovilizado (por ejemplo EDB) en una solución que comprende un primer anticuerpo marcado que se une al antígeno (por ejemplo el anticuerpo L19) y un segundo anticuerpo no marcado que se somete a ensayo para su capacidad de competir con el primer anticuerpo para la unión al antígeno. El

segundo anticuerpo puede encontrarse presente en un sobrenadante de hibridoma. A modo de control, se incuba antígeno inmovilizado en una solución que comprende el primer anticuerpo marcado pero no el segundo anticuerpo no marcado. Tras la incubación bajo condicioens permisivas de la unión del primer anticuerpo al antígeno, se elimina el exceso de anticuerpo no unido, y se mide la cantidad de marcaje asociado al marcaje inmovilizado. En el caso de que la cantidad de marcaje asociado al antígeno inmovilizado se encuentre sustancialmente reducido en la muestra de ensayo respecto a la muestra de control, este hecho indica que el segundo anticuerpo compite con el primer anticuerpo para la unión al antígeno. Ver Harlow y Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, capítulo 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY), 1988.

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

Los mutantes e inmunoconjugados de IL-2 preparados tal como se describe en la presente memoria pueden purificarse mediante métodos conocidos de la técnica, tales como la cromatografía líquida de alto rendimiento, la cromatografía de intercambio iónico, la electroforesis en gel, la cromatografía de afinidad, la cromatografía de exclusión por tamaño, y similares. Las condiciones reales utilizadas para purificar una proteína particular dependerán, en parte, de factores tales como la carga neta, hidrofobicidad, hidrofilicidad, etc., y resultarán evidentes para el experto en la materia. Para la purificación mediante cromatografía de afinidad, puede utilizarse un anticuerpo, ligando, receptor o antígeno al que se une el polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado. Por ejemplo, puede utilizarse un anticuerpo que se una específicamente al polipéptido IL-2 mutante. Para la purificación mediante cromatografía de afinidad de los inmunoconjugados de la inveción, puede utilizarse una matriz con proteína A o con proteína G. Por ejemplo, la cromatografía de afinidad de proteína A o G y la cromatografía de exclusión por tamaño realizadas en secuencia pueden utilizarse para aislar un inmunoconjugado

tal como se describe en los Ejemplos. La pureza de los polipéptidos IL-2 mutantes y las proteínas de fusión de los mismos pueden determinarse mediante cualquiera de entre una diversidad de métodos analíticos bien conocidos, incluyendo la electroforesis en gel, la cromatografía líquida de alta presión, y similares. Por ejemplo, las proteínas de fusión de cadena pesada expresadas tal como se describe en los Ejemplos se demostró que se encontraban intactas y ensambladas correctamente, tal como pone de manifiesto la SDS-PAGE reductora (ver, por ejemplo, la figura 14). Se resolvieron dos bandas en aproximadamente Mr 25.000 y Mr 60.000, correspondientes a los pesos moleculares predichos de la cadena ligera de inmunoglobulina y la proteína de fusión de cadena pesada/IL-2.

Ensayos

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

Ensayos de afinidad

La afinidad del polipéptido IL-2 mutante o de tipo salvaje para diversas formas del receptor de IL-2 puede determinarse según el método indicado en los Ejemplos mediante resonancia de plasmón superficial (SPR), utilizando instrumentación estándar, tal como un instrumento BIAcore (GE Healthcare) y subunidades de receptor, tales como las que pueden obtenerse mediante expresión recombinante (ver, por ejemplo, Shanafelt *et al.*, Nature Biotechnol. 18:1197-1202, 2000). Puede generarse un heterodímero recombinante de receptor β/γ de receptor de IL-2 mediante la fusión de cada una de las subunidades a un monómero dominio Fc de anticuerpo modificado mediante la tecnología de botón-en-ojal (ver, por ejemplo, la patente US nº 5.731.168), induciendo la heterodimerización de las proteínas de fusión apropiadas de subunidad de receptor/Fc (ver SEC ID nº 102 y nº 103). Alternativamente, la afinidad de unión de IL-2 mutantes para diferentes formas del receptor de IL-2 puede evaluarse utilizando líneas celulares que es conocido que expresan una u otra de dichas formas del receptor. Una realización iliustrativa y ejemplar específica para medir la afinidad de unión se describe a continuación y en

los Ejemplos, posteriormente. Según una realización, K_D se mide mediante resonancia de plasmón superficial utilizando un aparato BIACORE® T100 (GE Healthcare) a 25ºC con receptores de IL-2 inmovilizados sobre un chip CM5. Brevemente, se activan chips biosensores de dextrano carboximetilado (CM5, GE Healthcare) con hidrocloruro de N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS) siguiendo las instrucciones del proveedor. Se diluye receptor de IL-2 recombinante con acetato sódico 10 mM, pH 5,5, a una concentración de entre 0,5 y 30 µg/ml antes de la inyección a un caudal de 10 µl/minuto para alcanzar aproximadamente 200 a 1.000 (para la subunidad α de IL-2R) o de 500 a 3.000 (para el heterodímero botón-en-ojal IL-2R βγ) unidades de respuesta (RU) de proteína acoplada. Tras la inyección del receptor de IL-2, se inyectó etanolamina 1 M para bloquear los grupos no reaccionados. Para las mediciones cinéticas, se inyectaron diluciones en serie de tres veces de polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado (intervalo de entre ~0,3 nM y 300 nM) en HBS-EP+ (GE Healthcare, HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, surfactante P20 al 0,05%, pH 7,4) a 25ºC a un caudal de aproximadamente 30 µl/minuto. Se calcularon las tasas de asociación (k_{on}) y de disociación (k_{off}) utilizando un modelo simple de Langmuir de unión uno a uno (BIACORE® Evaluation Software versión 1.1.1) mediante ajuste simultáneo de los sensogramas de asociación y de disociación. Se calcul? la constante de equilibrio de disociación (K_D) como la proporción k_{off}/k_{on}. Ver, por ejemplo, Chen *et al.*, J. Mol. Biol. 293:865-881, 1999.

La unión de los inmunoconjugados de la invención a los receptores de Fc puede determinarse fácilmente mediante, por ejemplo, ELISA, o mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) utilizando instrumentos estándares, tales como un instrumento BIAcore (GE Healthcare) y receptores de Fc, tales como los que pueden obtenerse mediante expresión recombinante. Alternativamente, la afinidad de unión de dominios Fc o inmunoconjugados que comprenden un dominio Fc para receptores de Fc puede evaluarse utilizando líneas celulares que es conocido que expresan receptores de Fc particulares, tales como células NK que expresan el receptor de FcγIIIa. Según una realización, K_D se mide mediante resonancia de plasmón superficial utilizando un aparato BIACORE® T100 (GE Healthcare) a 25ºC con receptores de Fc inmovilizados sobre chips CM5. Brevemente, se activan chips biosensores de dextrano carboximetilado (CM5, GE Healthcare) con

hidrocloruro de N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (EDC) y N-hidroxisuccinimida (NHS) siguiendo las instrucciones del proveedor. Se diluyó receptor de Fc recombinante con acetato sódico 10 mM, pH 5,5, hasta una concentración de entre 0,5 y 30 µg/ml antes de la inyección a un caudal de 10 µl/minuto para alcanzar aproximadamente 100 a 5.000 unidades de respuesta (RU) de proteína acoplada. Tras la inyección del receptor de Fc, se inyectó etanolamina 1 M para bloquear los grupos no reaccionados. Para las mediciones cinéticas, se inyectaron diluciones en serie de tres a cinco veces de inmunoconjugado (intervalo de entre ~0,01 nM y 300 nM) en HBS-EP+ (GE Healthcare, HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, surfactante P20 al 0,05%, pH 7,4) a 25ºC a un caudal de entre aproximadamente 30 y 50 µl/minuto. Se calcularon las tasas de asociación (k_{on}) y de disociación (k_{off}) utilizando un modelo simple de Langmuir de unión uno a uno (BIACORE® T100 Evaluation Software versión 1.1.1) mediante ajuste simultáneo de los sensogramas de asociación y de disociación. Se calcul? la constante de equilibrio de disociación (K_D) como la proporción k_{off}/k_{on}. Ver, por ejemplo, Chen *et al.*, J. Mol. Biol. 293:865-881, 1999.

Ensayos de actividad

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

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

polipéptidos IL-2 mutantes que presentan dicha actividad biológica *in vivo* y/o *in vitro*.

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

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

La proliferación de las células T o de las células NK en respuesta a IL-2 puede medirse mediante incubación de las células T o de las células NK aisladas a partir de sangre con polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados de la invención, seguido de la determinación del contenido de ATP en lisados de las células tratadas. Antes del tratamiento, las células T pueden preestimularse con fitohemaglutinina (PHA-M). Este ensayo, descrito en los Ejemplos, permite la cuantificación precisa del número de células viables; sin embargo, existen

numerosos ensayos alternativos adecuados conocidos de la técnica (por ejemplo el ensayo de incorporación de [^{3}H]-timidina, ensayos CellTiter-Glo de ATP, ensayo con azul de Alamar, ensayo con WST-1 ó ensayo con MTT).

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

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

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

La vasopermeabilidad inducida por el tratamiento con IL-2 puede examinarse en un modelo animal de vasopermeabilidad pretratamiento. En general, el mutante o inmunoconjugado de IL-2 de la invención se administra en un animal adecuado, por ejemplo un ratón, y posteriormente el animal recibe una inyección de una molécula informadora de fuga vascular cuya diseminación a partir de los vasos refleja el grado de permeabilidad vascular. La molécula informadora de fuga vascular preferentemente es suficientemente grande para revelar la permeabilidad con la forma de tipo salvaje de IL-2 utilizada para el pretratamiento. Un ejemplo de una molécula informadora de fuga vascular puede ser una proteína sérica, tal como albúmina o una inmunoglobulina. La molécula informadora de fuga vascular preferentemente se marca detectablemente, tal como con un isótopo radioactivo,

con el fin de facilitar la determinación cuantitativa de la distribución de la molécula en los tejidos. La permeabilidad vascular puede medirse para vasos presentes en cualquiera de entre una diversidad de órganos corporales internos, tales como hígado, pulmón y similares, así como en un tumor, incluyendo un tumor que ha sido xenoinjertado. El pulmón es un órgano preferente para medir la vasopermeabilidad de las IL-2 mutantes de longitud completa.

Composiciones, formulaciones y vías de administración

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

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

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados disuelta o dispersada en un portador farmacéuticamente aceptable. La expresión "farmacéutica o farmacológicamente aceptable" se refiere a entidades moleculares y composiciones que generalmente no resultan tóxicas para los receptores a las dosis y concentraciones utilizadas, es decir, no producen una reacción adversa, alérgica u otra reacción no deseable al administrarse en un

animal, tal como, por ejemplo, un ser humano, según resulte apropiado. La preparación de una composición farmacéutica que contiene por lo menos un polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado y opcionalmente un ingrediente activo adicional será conocida para el experto en la materia a la luz de la presente exposición, tal como se ejemplifica en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18a edición, Mack Printing Company, 1990, incorporada en la presente memoria como referencia. Además, para la administración animal (por ejemplo humana), se entenderá que las preparaciones deben cumplir los estándares de esterilidad, pirogenicidad, seguridad general y pureza requeridas por la oficina de estándares biológicos de la FDA o las autoridades correspondientes en otros países. Las composiciones preferentes son formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. Se describen composiciones de IL-2 ejemplares en las patentes US nº 4.604.377 y nº 4.766.106. Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "portador farmacéuticamente aceptable2 incluye cualquiera y todos los solventes, tampones, medios de dispersión, recubrimientos, surfactantes, antioxidantes, conservantes (por ejemplo agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes retardantes de la absorción, sales, conservantes, antioxidantes, proteínas, fármacos, estabilizadores de fármacos, polímeros, geles, ligantes, excipientes, agentes de desintegración, lubricantes, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, pigmentos, y materiales similares y combinaciones de los mismos que resultarán conocidos por el experto ordinario en la materia (ver, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18a edición, Mack Printing Company, 1990, páginas 1289 a 1329, incorporada en la presente memoria como referencia). Salvo en la medida en que cualquier portador convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se encuentra contemplada su utilización en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

La composición puede comprender diferentes tipos de portador dependiendo de si debe administrarse en forma sólida, líquida o de aerosol, y de si necesita ser estéril para vías de administración tales como la inyección. Los polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados de la presente invención (y cualquier agente terapéutico adicional) pueden administrarse por vía intravenosa, intradérmica, intraarterial, intraperitoneal, intralesional, intracraneal, intraarticular, intraprostática, intraesplénica, intrarrenal, intrapleural, intratraqueal, intranasal, intravítrea,

intravaginal, intrarrectal, intratumoral, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, subconjuntival, intravesicular, mucosl, intrapericárdica, intraumbilical, intraocular, oral, típica, local, mediante inhalación (por ejemplo inhalación de aerosol), inyección, infusión, infusión continua, perfusión localizada bañando las células directamente, mediante un catéter, mediante un lavado, en cremas, en composiciones lipídicas (por ejemplo liposomas) o mediante otro método o cualquier combinación de los anteriores, tal como será conocido por el experto ordinario en la materia (ver, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18a edición, Mack Printing Company, 1990, incorporada como referencia en la presente memoria). La administración parenteral, en particular la inyección intravenosa, se utiliza más comúnmente para administrar moléculas de polipéptido tales como los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención.

Entre las composiciones parenterales se incluyen aquéllas diseñadas para la administración mediante inyección, por ejemplo subcutánea, intradérmica, intralesional, intravenosa, intraarterial, intramuscular, intratecal o intraperitoneal. Para la inyección, los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención pueden formularse en soluciones acuosas, preferentemente en tampones fisiológicamente compatibles, tales como solución de Hank, solución de Ringer o tampón de solución salina fisiológica. La solución puede contener agentes de formulación, tales como agentes de suspensión, estabilizadores y/o dispersantes. Alternativamente, los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados pueden encontrarse en forma de polvos para la constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo agua estéril libre de pirógenos, antes de la utilización. Las soluciones inyectables estériles se preparan mediante la incorporación de los polipéptidos IL-2 o inmunoconjugados de la invención en la cantidad necesaria en el solvente apropiado con algunos de los demás ingredientes indicados posteriormente, según resulte necesario. La esterilidad puede conseguirse fácilmente mediante, por ejemplo, filtración a través de membranas de filtración estéril. Generalmente, las dispersiones se preparan mediante la incorporación de los diversos ingredientes activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y/o los demás ingredientes. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones, suspensiones o emulsiones inyectables estériles, los métodos preferentes de preparación son las técnicas de secado al vacío o de

secado por congelación, que proporcionan unos polvos del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional a partir de un medio líquido previamente esterilizado mediante filtración del mismo. El medio líquido debe tamponarse convenientemente, si resulta necesario, y el diluyente líquido en primer lugar debe hacerse isotónica antes de la inyección, con suficiente solución salina o glucosa. La composición debe ser estable bajo las condiciones de preparación y almacenamiento, y de esta manera conservarse frente a la accción contaminante de microorganismos, tales como bacterias y hongos. Se apreciará que la contaminación por endotoxinas debe mantenerse como mínimo a un nivel seguro, por ejemplo a menos de 0,5 ng/mg de proteína. Entre los portadores farmacéuticamente aceptables adecuados se incluyen, aunque sin limitación: tampones tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes, incluyendo ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencil-amonio, cloruro de hexametonio, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, fenol, alcohol butílico o bencílico; alquilparabenes tales como metilparabén o propilparabén, catecol, resorcinol, ciclohexanol, 3-pentanol y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (inferior a aproximadamente 10 residuos); proteínas, tales como albúmina sérica, gelatina, o inmunoglobulinas; polímeros hidrofílicos, tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos, tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina, o lisina; monosacáridos, disacáridos, y otros carbohidratos, incluyendo glucosa, manosa, o dextrinas; agentes quelantes, tales como EDTA; azúcares, tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales, tales como sodio; complejos metálicos (por ejemplo complejos de Zn-proteína) y/o surfactantes no iónicos, tales como polietilenglicol (PEG). Las suspensiones acuosas para inyección pueden contener compuestos que incrementen la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetilcelulosa sódica, sorbitol, dextrano o similares. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizadores o agentes adecuados que incrementen la solubilidad de los compuestos, permitiendo la preparación de soluciones altamente concentradas. Además, pueden prepararse suspensiones de los compuestos activos en forma de suspensiones aceitosas para inyección apropiadas. Entre los vehículos o solventes lipofílicos adecuados se incluyen aceites grasos, tales como aceite de sésamo o ésteres sintéticos de ácidos grasos, tales como ramificaciones de etilo o triglicéridos, o liposomas.

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

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

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

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

Métodos y composiciones terapéuticos

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

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

Los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención resultan útiles en el tratamiento de estados de enfermedad en los que la estimulación del sistema inmunológico del huésped resulta beneficioso, en particular condiciones en las que resulta deseable una respuesta inmunológica celular incrementada. Entre ellas

pueden incluirse estados de enfermedad en los que la respuesta inmunológica del huésped resulta insuficiente o deficiente. Los estados de enfermedad para los que pueden administrarse polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados de la invención comprenden, por ejemplo, un tumor o infección en el que una respuesta inmunológica celular sería un mecanismo crítico para la inmunidad específica. Entre los estados de enfermedad específicos para los que pueden utilizarse las IL-2 mutantes de la presente invención se incluyen el cáncer, específicamente el carcinoma de células renales o el melanoma, la deficiencia inmunológica, específicamente en pacientes VIH-positivos, los pacientes inmunosuprimidos, la infección crónica y similares. Los polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados de la invención pueden administrarse per se o en cualquier composición farmacéutica adecuada.

En un aspecto, se proporcionan polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención para la utilización como medicamento. En aspectos adicionales, se proporcionan polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención para la utilización en el tratamiento de una enfermedad. En determinadas realizaciones, se proporcionan polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención para la utilización en un método de tratamiento. En una realización, la invención proporciona un polipéptido IL-2 mutante o un inmunoconjugado tal como se indica en la presente memoria para la utilización en el tratamiento de una enfermedad en un individuo que necesita del mismo. En determinadas realizaciones, la invención proporciona un polipéptido IL-2 mutante o un inmunoconjugado para la utilización en un método de tratamiento de un individuo que presenta una enfermedad, comprendiendo la administración en el individuo de una cantidad terapéuticamente efectiva del polipéptido IL-2 mutante o del inmunoconjugado. En determinadas realizaciones, la enfermedad que debe tratarse es un trastorno proliferativo. En una realización preferente, la enfermedad es cáncer. En determinadas realizaciones, el método comprende además la administración en el individuo de una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo un agente anticáncer en el caso de que la enfermedad que debe tratarse sea cáncer. En realizaciones adicionales, la invención proporciona un polipéptido IL-2 mutante o un inmunoconjugado para la utilización en la estimulación del sistema inmunológico. En determinadas realizaciones, la invención proporciona un

polipéptido IL-2 mutante o un inmunoconjugado para la utilización en un método de estimulación del sistema inmunológico en un individuo, comprendiendo la administración en el individuo de una cantidad efectiva del polipéptido IL-2 mutante o del inmunoconjugado con el fin de estimular el sistema inmunológico. Un "individuo" según cualquiera de las realizaciones anteriores es un mamífero, particularmente un ser humano. La expresión "estimulación del sistema inmunológico" según cualquiera de las realizaciones anteriores puede incluir uno o más cualesquiera de entre un incremento general de la función inmunológica, un incremento de la actividad de las células T, un incremento de la actividad de las células B, una restauración de la función linfocitaria, un incremento de la expresión de los receptores de IL-2, un incremento de la capacidad de respuesta de las células T, un incremento de la actividad de las células asesinas naturales o de la actividad de las células asesinas activadas por linfoquinas (LAK), y similares.

En un aspecto adicional, la invención proporciona la utilización de un polipéptido IL-2 mutante o de un inmunoconjugado de la invención en la fabricación o preparación de un medicamento destinado al tratamiento de una enfermedad en un individuo que necesita del mismo. En una realización, el medicamento está destinado a la utilización en un método de tratamiento de una enfermedad, que comprende administrar en un individuo que presenta la enfermedad, una cantidad terapéuticamente efectiva del medicamento. En determinadas realizaciones, la enfermedad que debe tratarse es un trastorno proliferativo. En una realización preferente, la enfermedad es cáncer. En una de dichas realizaciones, el método comprende además la administración en el individuo de una cantidad terapéuticamente efectiva de por lo menos un agente terapéutico adicional, por ejemplo un agente anticáncer en el caso de que la enfermedad que debe tratarse sea cáncer. En una realización adicional, el medicamento está destinado a estimular el funcionamiento del sistema inmunológico En una realización adicional, el medicamento está destinado a la utilización en un método de estimulación del sistema inmunológico en un individuo, comprendiendo la administración en el individuo de una cantidad del medicamento efectiva para estimular el funcionamiento del sistema inmunológico. Un "individuo" según cualquiera de las realizaciones anteriores puede ser un mamífero, particularmente un ser humano. La expresión "estimulación del sistema inmunológico" según cualquiera de las

realizaciones anteriores puede incluir uno o más cualesquiera de entre un incremento general de la función inmunológica, un incremento de la actividad de las células T, un incremento de la actividad de las células B, una restauración de la función linfocitaria, un incremento de la expresión de los receptores de IL-2, un incremento de la capacidad de respuesta de las células T, un incremento de la actividad de las células asesinas naturales o de la actividad de las células asesinas activadas por linfoquinas (LAK), y similares.

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

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

En determinadas realizaciones, la enfermedad que debe tratarse es un trastorno proliferativo, preferentemente cáncer. Entre los ejemplos no limitativos de cánceres se incluyen cáncer de vejiga, cáncer cerebral, cáncer de cabeza y cuello, cáncer pancreático, cáncer pulmonar, cáncer de mama, cáncer ovárico, cáncer uterino, cáncer cervical, cáncer endometrial, cáncer esofágico, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer rectal, cáncer gástrico, cáncer de próstata, leucemia, cáncer de piel, carcinoma de células escamosas, cáncer óseo y cáncer renal. Entre otros trastornos de la proliferación celular que pueden tratarse utilizando un polipéptido IL-2 mutante o un inmunoconjugado de la presente invención se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, neoplasmas localizados en: abdomen, huesos, mamas, sistema digestivo, hígado, páncreas, peritoneo, glándulas endocrinas (adrenal, paratiroides, pituitaria, testículos, ovario, timo, tiroides), ojo, cabeza y cuello, sistema nervioso (central y periférico), sistema linfático, pelvis, piel, tejidos blandos, bazo, región torácica y sistema urogenital. También se encuentran incluidas las condiciones o lesiones precancerosas y las metástasis de cáncer. En determinadas realizaciones, el cáncer se selecciona de entre el grupo que consiste de cáncer de células renales, cáncer de piel, cáncer pulmonar, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer cerebral y cáncer de cabeza y cuello. De manera similar, otros trastornos de la proliferación celular también pueden tratarse con los polipéptidos IL2 mutantes e inmunoconjugados de la presente invención. Entre los ejemplos de dichos trastornos de la proliferación celular se incluyen, aunque sin limitación: hipergammaglobulinemia, trastornos linfoproliferativos, paraproteinemias, púrpura, sarcoidosis, síndrome de Sézary, macroglobulinemia de Waldenström, enfermedad de Gaucher, histiocitosis y cualquier otra enfermedad de proliferación celular, aparte de neoplasias, localizadas en un sistema orgánico de los indicados anteriormente. En otra realización, la enfermedad se relaciona con la autoinmunidad, el rechazo del trasplante, las respuestas inmunológicas post-traumáticas y las enfermedades infecciosas (por ejemplo por VIH). Más concretamente, los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados pueden utilizarse para eliminar las células implicadas en trastornos inmunológicos

mediados por células, incluyendo el linfoma; la autoinmunidad, el rechazo del trasplante, la enfermedad del injerto contra el huésped, la isquemia y el ictus. El experto en la materia reconocerá fácilmente que en muchos casos los polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados pueden no proporcionar una curación sino únicamente un beneficio parcial. En algunas realizaciones, también se considera terapéuticamente beneficioso un cambio fisiológico que presente algún beneficio. De esta manera, en algunas realizaciones, una cantidad de polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado que proporcione un cambio fisiológico se considera una "cantidad efectiva" o una "cantidad terapéuticamente efectiva". El sujeto, paciente o individuo que necesita tratamiento típicamente es un mamífero, más concretamente un ser humano.

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

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

Para la prevención o tratamiento de una enfermedad, la dosis apropiada de un polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado de la invención (en el caso de que se utilice solo o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales) dependerá del tipo de enfermedad que debe tratarse, de la vía de administración, del peso corporal del paciente, del tipo de polipéptido (por ejemplo IL-2 no conjugada o inmunoconjugado), de la severidad y curso de la enfermedad, de si el anticuerpo se administra con fines preventivos o terapéuticos, de las intervenciones terapéuticas concurrentes o previas, del historial clínico del paciente y de la respuesta al polipéptido IL-2 mutante o inmunoconjugado y del criterio del médico responsable. El practicante responsable de la administración podrá, en cualquier

caso, determinar la concentración de ingrediente o ingredientes activos en una composición y la dosis o las dosis apropiadas para el sujeto individual. En la presente memoria se encuentran contemplados diversos programas de dosificación, incluyendo, aunque sin limitarse a ellas, la administración individual o múltiple en diversos puntos temporales, la administración de bolo y la infusión de pulsos.

Una única administración de IL-2 no conjugado puede encontrarse comprendida entre aproximadamente 50.000 IU/kg y aproximadamente 1.000.000 IU/kg, más típicamente aproximadamente 600.000 IU/kg de IL-2. Esta administración puede repetirse varias veces al día (por ejemplo 2-3x), durante varios días (por ejemplo entre aproximadamente 3 y 5 días consecutivos) y después puede repetirse una o más veces tras un periodo de reposo (por ejemplo entre aproximadamente 7 y 14 días). De esta manera, una cantidad terapéuticamente efectiva puede comprender únicamente una sola administración o muchas administraciones durante un periodo de tiempo (por ejemplo entre aproximadamente 20 y 30 administraciones individuales de aproximadamente 600.000 IU/kg de IL-2 cada una administradas durante un periodo aproximado de entre 10 y 20 días). En el caso de que se administre en forma de inmunoconjugado, una cantidad terapéuticamente efectiva del polipéptido IL-2 mutante puede ser inferior que la del polipéptido IL-2 mutante no conjugado.

De manera similar, el inmunoconjugado se administra convenientemente en el paciente de una vez o en una serie de tratamientos. Dependiendo del tipo y severidad de la enfermedad, aproximadamente 1 µg/kg a 15 mg/kg (por ejemplo 0,1 mg/kg a 10 mg/kg) de inmunoconjugado puede ser una posible dosis inicial para la administración en el paciente, por ejemplo en una o más administraciones separadas o mediante infusión continua. Una dosis diaria típica puede encontrarse comprendida entre aproximadamente 1 µg/kg y 100 mg/kg o más, dependiendo de los factores indicados anteriormente. Para las administraciones repetidas a lo largo de varios días o más, dependiendo de la condición, el tratamiento generalmente se prolonga hasta que se produce la supresión deseada de los síntomas de la enfermedad. Una dosis ejemplar del inmunoconjugado se encontraría comprendida en el intervalo de entre aproximadamente 0,005 mg/kg y aproximadamente 10

mg/kg. En otros ejemplos no limitativos, una dosis también puede comprender entre aproximadamente 1 microgramo/kg/peso corporal, aproximadamente 5 microgramo/kg/peso corporal, aproximadamente 10 microgramo/kg/peso corporal, aproximadamente 50 microgramo/kg/peso corporal, aproximadamente 100 microgramo/kg/peso corporal, aproximadamente 200 microgramo/kg/peso corporal, aproximadamente 350 microgramo/kg/peso corporal, aproximadamente 500 microgramo/kg/peso corporal, aproximadamente 1 miligramo/kg de peso corporal, aproximadamente 5 miligramo/kg de peso corporal, aproximadamente 10 miligramo/kg de peso corporal, aproximadamente 50 miligramo/kg de peso corporal, aproximadamente 100 miligramo/kg de peso corporal, aproximadamente 200 miligramo/kg de peso corporal, aproximadamente 350 miligramo/kg de peso corporal, aproximadamente 500 miligramo/kg de peso corporal y aproximadamente 1.000 mg/kg de peso corporal o más en cada administración, y cualquier intervalo derivable a partir de los mismos. En ejemplo no limitativos de un intervalo derivable a partir de los números indicados en la presente memoria, puede administrarse un intervalo de entre aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, de entre aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal y aproximadamente 500 mg/kg de peso corporal, etc., basándose en los números indicados anteriormente. De esta manera, pueden administrarse en el paciente una o más dosis de aproximadamente 0,5 mg/kg, 2,0 mg/kg, 5,0 mg/kg ó 10 mg/kg (o cualquier combinación de las mismas). Dichas dosis pueden administrarse intermitentemente, por ejemplo cada semana o cada tres semanas (por ejemplo de manera que el paciente reciba entre aproximadamente dos y aproximadamente veinte, o por ejemplo aproximadamente seis dosis del inmunoconjugado). También puede administrarse una dosis inicial de carga más elevada, seguido de una o más dosis más bajas. Sin embargo, otros regímenes de dosificación pueden resultar útiles. Se realiza fácilmente un seguimiento del progreso de dicha terapia mediante técnicas y ensayos convencionales.

Los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención generalmente se utilizan en una cantidad efectiva para conseguir el propósito pretendido. Para la utilización en el tratamiento o prevención de una condición de enfermedad, los polipéptidos IL-2 mutantes e inmunoconjugados de la invención, o composiciones farmacéuticas de los mismos, se administran o se aplican en una cantidad

terapéuticamente efectiva. La determinación de una cantidad terapéuticamente efectiva se encuentra perfectamente comprendida dentro de los conocimientos del experto en la materia, especialmente a la luz de la exposición detallada proporcionada en la presente memoria.

Para la administración sistémica, puede estimarse inicialmente una dosis terapéuticamente efectiva a partir de ensayos *in vitro*, tales como los ensayos de cultivo celular. A continuación, puede formularse una dosis en modelos animales para alcanzar un intervalo de concentraciones circulantes que incluye la IC_{50} según determinación en cultivo celular. Dicha información puede utilizarse para determinar con mayor exactitud las dosis útiles en el ser humano.

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

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

En los casos de administración local o incorporación selectiva, la concentración local efectiva de los inmunoconjugados puede no encontrarse relacionada con la concentración plasmática. El experto en la materia podrá optimizar las dosis locales terapéuticamente efectivas sin necesidad de experimentación indebida.

Una dosis terapéuticamente efectiva de los polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados indicados en la presente memoria generalmente proporcionará un beneficio terapéutico sin causar toxicidad sustancial. La toxicidad y la eficacia terapéutica de una IL-2 mutante o inmunoconjugado pueden determinarse mediante

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

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

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

Otros agentes y tratamientos

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

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

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

Artículos fabricados

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

tampón farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyección (BWFI), solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer o solución de dextrosa. Puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y para el usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

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

Breve descripción de las figuras

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

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

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

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

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

Figura 6. Purificación del constructo desnudo de IL-2 mutante cuádruple. (A) Cromatograma de la cromatografía de exclusión por tamaño para la IL-2 mutante

cuádruple, (B) SDS-PAGE de proteína purificada (Bis-Tris al 8-12% (NuPage, Invitrogen), tampón de migración MES).

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

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

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

Figura 10. Inducción de la liberación de células NK aisladas (parte inferior) por parte de Fab-IL-2-Fab basada en 4G8 con diana en FAP que comprende IL-2 de tipo salvaje o mutante, en comparación con proleuquina, en solución.

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

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

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

Figura 14. Purificación del inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab basado en 28H1 con diana en FAP. (A) Perfil de elución de la columna de proteína G. (B) Perfil de elución de la columna de exclusión por tamaño Superdex 200. (C) SDS-PAGE

Novex con Tris-glicina al 4-20% del producto final con muestra no reducida y muestra reducida.

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

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

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

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

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

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

Figura 21. Liberación de IFN-γ por células NK92 en solución inducida por IL-2.

Figura 22. Liberación de IFN-γ por células NK92 en solución inducida por IL-2.

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

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

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

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

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

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

Figura 29. Imágenes de mayor magnificación (200x) de los pulmones mostrados en la figura 28. La marginación e infiltración de células mononucleares al interior y en torno a los vasos sanguíneos es más severa en los ratones tratados con IL-2 wt (A) que en ratones tratados con IL-2 qm (B y C).

Figura 30. Imágenes a baja magnificación (100x) de hígados de ratones tratados con control de vehículo (A) ó 9 µg/g peso húmedo de IL-2 (B) o IL-2 qm (C). Se observa infiltración vasocéntrica en ratones tratados con IL-2 wt.

Figura 31. Secreción de IFN-γ por parte de células NK92 tras la incubación con diferentes preparaciones de IL-2 de tipo salvaje (wt) y mutante cuádruple (qm) durante 24 (A) ó 48 horas (B).

Figura 32. Proliferación de células NK92 tras la incubación con diferentes preparaciones de IL-2 de tipo salvaje (wt) y mutante cuádruple (qm) durante 48 horas.

Figura 33. Proliferación de células NK92 tras la incubación con diferentes preparaciones de IL-2 de tipo salvaje (wt) y mutante cuádruple (qm) durante 48 horas.

Figura 34. Proliferación de las células NK tras la incubación con diferentes inmunoconjugados de IL-2 28H1 con diana en FAP o con proleuquina durante 4 (A), 5 (B) ó 6 (C) días.

Figura 35. Proliferación de células T CD4 tras la incubación con diferentes inmunoconjugados de IL-2 28H1 con diana en FAP o con proleuquina durante 4 (A), 5 (B) ó 6 (C) días.

Figura 36. Proliferación de células T CD8 tras la incubación con diferentes inmunoconjugados de IL-2 28H1 con diana en FAP o con proleuquina durante 4 (A), 5 (B) ó 6 (C) días.

Figura 37. Proliferación de células NK (A), células T CD4 (B) y células T CD8 (C) tras la incubación con diferentes inmunoconjugados de IL-2 o proleuquina durante 6 días.

Figura 38. Fosforilación STAT en células NK (A), células T CD8 (B), células T CD4 (C) y células T reguladoras (D) tras una incubación de 30 minutos con proleuquina, IL-2 de tipo salvaje producida en el propio laboratorio e IL-2 mutante cuádruple.

Figura 39. Fosforilación STAT en células NK (A), células T CD8 (B), células T CD4 (C) y células T reguladoras (D) tras una incubación de 30 minutos con proleuquina, IgG-IL-2 que comprende IL-2 de tipo salvaje o IgG-IL-2 que comprende IL-2 mutante cuádruple.

Figura 40. Supervivencia de ratones Black 6 tras la administración (una vez al día durante siete días) de diferentes dosis de inmunoconjugados de IL-2 que comprendían IL-2 de tipo salvaje o mutante cuádruple.

Figura 41. Concentraciones en suero de inmunoconjugados de IL-2 tras una única administración i.v. de constructos IgG-IL-2 con diana en FAP (A) y sin diana (B) que comprendían IL-2 de tipo salvaje (wt) o mutante cuádruple (qm).

Figura 42. Concentraciones en suero de inmunoconjugados de IL-2 tras una única administración i.v. de constructos Fab-IL-2-Fab sin diana que comprendían IL-2 de tipo salvaje (wt) o mutante cuádruple (qm).

Figura 43. Purificación de IL-2 mutante cuádruple. (A) Cromatografía de iones metálicos inmovilizados, (B) cromatografía de exclusión por tamaño, (C) SDS-PAGE bajo condiciones no reductoras (gel NuPAGE de Novex con Bis-Tris (Invitrogen), tampón de migración MES), (D) cromatografía analítica de exclusión por tamaño (columna Superdex 75 10/300 GL).

Figura 44. Proliferación de células T CD8 (A) y CD4 (B) preactivadas tras una incubación de seis días con diferentes inmunoconjugados de IL-2.

Figura 45. Muerte celular inducida por activación de células T $CD3^+$ tras una incubación de seis días con diferentes inmunoconjugados de IL-2 y tratamiento durante la noche con anticuerpo anti-Fas.

Figura 46. Purificación del inmunoconjugado IgG-IL-2 mutante cuádruple (qm) basado en 4G8 con diana en FAP. A) Perfil de elución de la etapa de cromatografía de afinidad de proteína A. B) Perfil de elución de la etapa de cromatografía de exclusión por tamaño. C) SDS-PAGE analítica (minigel NuPAGE de Novex con Bis-Tris, Invitrogen, tampón de migración MOPS) del producto final. D) Cromatografía analítica de exclusión por tamaño del producto final en una columna Superdex 200 (contenido de monómero: 97%).

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

Figura 48. Unión del inmunoconjugado IgG-IL-2 qm basado en 4G8 con diana en FAP a FAP humana expresada sobre células HEK 293 transfectadas establemente

según medición mediante FACS, en comparación con el constructo Fab-IL-2 qm-Fab correspondiente.

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

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

Ejemplos

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

Ejemplo 1

Métodos generales

Técnicas de ADN recombinante

Se utilizaron métodos estándares para manipular el ADN, tales como los descritos en Sambrook *et al.*, Molecular cloning: A laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989. Los reactivos biológicos moleculares se utilizaron siguiendo las instrucciones del fabricante. Se proporciona información general sobre secuencias de nucleótidos de cadenas ligeras y pesadas de inmunoglobulinas humanas en: Kabat, E.A. *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Ed., publicación del NIH nº 91-3242, 1991.

Secuenciación de ADN

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

Síntesis génica

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

Preparación de fusiones subunidad βγ de IL-2R-Fc y fusión de subunidad α de IL-2R-Fc

Para estudiar la afinidad de unión de los receptores de IL-2, se generó una herramienta que permitía la expresion de un receptor de IL-2 heterodimérico; la subunidad β del receptor de IL-2 se fusionó con una molécula de Fc que se había manipulado para heterodimerizarse (Fc(ojal)) (ver SEC ID nº 274 y nº 275) utilizando la tecnología de "botón-en-ojal" (Merchant *et al.*, Nat. Biotech. 16, 677-681, 1998). La subunidad γ del receptor de IL-2 seguidamente se fusionó con la variante de Fc(botón) (ver SEC ID nº 276 y nº 277), que se heterodimerizó con Fc(ojal). Esta proteína de fusión de Fc heterodimérica seguidamente se utilizó como sustrato para analizar la interacción IL-2/receptor de IL-2. La subunidad α de IL-2R se expresó en forma de cadena monomérica con un sitio de corte AcTev y una etiqueta Avi His (SEC ID nº 278 y nº 279). Las subunidades respectivas de IL-2R se

expresaron transitoriamente en HEK EBNA 293 con suero para el constructo de subunidad βγ de IL-2R y sin suero para el constructo de subunidad α. El constructo de subunidad βγ de IL-2R se purificó en proteína A (GE Healthcare), seguido de cromatografía de exclusión por tamaño (GE Healthcare, Superdex 200). La subunidad α de IL-2R se purificó mediante una etiqueta His en una columna NiNTA (Qiagen), seguido de cromatografía de exclusión por tamaño (GE Healthcare, Superdex 75).

Preparación de los inmunoconjugados

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

Las secuencias de los inmunoconjugados que comprenden IL-2 de tipo salvaje que se utilizaron en los ejemplos siguientes también pueden encontrarse en la publicación de patente PCT nº WO 2011/020783. Las secuencias correspondientes a los inmunoconjugados que comprendían IL-2 mutante cuádruple que se utilizaron en los ejemplos siguientes fueron: 4G8: SEC ID nº 211 y nº 233; 3F2: SEC ID nº 209 y nº 231; 28H1: SEC ID nº 219 y nº 233; 29B11: SEC ID nº 221 y nº 231; 14B3: SEC ID nº 229 y nº 231; 4B9: SEC ID nº 227 y nº 231; MHLG1-KV9: SEC ID nº 253 y nº 255. Las secuencias de ADN se generaron mediante síntesis génica y/o técnicas clásicas de biología molecular y se subclonaron en vectores de expresión de mamífero (uno para la cadena ligera y una para la proteína de fusión cadena pesada/IL-2) bajo el control de un promotor de MPSV y cadena arriba de un sitio poliA sintético, portando cada vector una secuencia OriP del EBV. Los

inmunoconjugados tal como se aplican en los ejemplos, posteriormente, se produjeron mediante cotransfección de células HEK293-EBNA en crecimiento exponencial con los vectores de expresión de mamífero utilizando la transfección con fosfato de calcio. Alternativamente, se transfectaron células HEK293 en suspensión utilizando polietilenimina (PEI) con los vectores de expresión respectivos. Alternativamente, se utilizaron "pools" de células CHO transfectadas establemente o clones de células CHO, para la producción en medio libre de suero. Aunque los constructos Fab-IL-2-Fab basados en 4G8 con diana en FAP que comprenden IL-2 de tipo salvaje o mutante (cuádruple) pueden purificarse mediante cromatografía de afinidad utilizando una matriz de proteína A, los constructos Fab-IL-2-Fab basados en 28H1 con diana en FAP de afinidad madurada se purificaron mediante cromatografía de afinidad en una matriz de proteína G a escala pequeña.

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

Los constructos Fab-IL-2-Fab de 3F2 con diana en FAP o Fab-IL-2-Fab de 4G8 que comprendían IL-2 de tipo salvaje o mutante (cuádruple) se purificaron mediante un método similar compuesto de una etapa de afinidad utilizando proteína A, seguido de cromatografía de exclusión por tamaño (Superdex 200, GE Healthcare). Se equilibró la columna de proteína A en fosfato sódico 20 mM, citrato sódico 20 mM, pH 7,5, se cargó el sobrenadante y la columna se lavó con fosfato sódico 20 mM, citrato sódico 20 mM, cloruro sódico 500 mM, pH 7,5, seguido de un lavado con fosfato sódico 13,3 mM, citrato sódico 20 mM y cloruro sódico 500 mM, pH 5,45. Opcionalmente se lleva a cabo un tercer lavado con MES 10 mM y cloruro sódico

50 mM, pH 5. Se eluyó Fab-IL-2-Fab con citrato sódico 20 mM, cloruro sódico 100 mM, glicina 100 mM, pH 3. Las fracciones eluidas se agruparon y se pulieron mediante cromatografía de exclusión por tamaño en el tampón de formulación final: fosfato potásico 25 mM, cloruro sódico 125 mM, glicina 100 mM, pH 6,7. Se proporcionan posteriormente procedimientos y resultados ejemplares detallados para los constructos seleccionados.

Se generaron proteínas de fusión IgG-IL-2 qm con diana en FAP basándose en los anticuerpos de FAP 4G8 ,4B9 y 28H1, en las que se fusionó una única IL-2 mutante cuádruple (qm) con el extremo C-terminal de una cadena pesada heterodimérica, tal como se muestra en la figura 1B. La dianización al estroma tumoral en el que se expresa selectivamente FAP se consigue mediante la región Fab del anticuerpo bivalente (efecto de avidez). La heterodimerización que resulta en la presencia de una única IL-2 mutante cuádruple se consigue mediante la aplicación de la tecnología de botón-en-ojal. Con el fin de minimizar la generación de fusiones homodiméricas IgG-citoquina, la citoquina se fusionó con el extremo C-terminal (con deleción del residuo Lys C-terminal) de la cadena pesada de IgG que contiene botón mediante un conector G_4-$(SG_4)_2$- o $(G_4S)_3$-. La fusión anticuerpo-citoquina presenta propiedades de tipo IgG. Para reducir la unión de FcγR/función efectora y evitar la coactivación de FcR, se introdujeron las mutaciones P329G, L234A, L235A (LALA) en el dominio Fc. Las secuencias de estos inmunoconjugados se proporcionan en SEC ID nº 297, 299 y 233 (28H1), SEC ID nº 301, 303 y 231 (4B9) y SEC ID nº 315, 317 y 233 (4G8). Además, se generó una proteína de fusión IG-IL-2 qm con diana en CEA y una proteína de fusión IgG-IL-2 qm sin diana DP47GS de control en la que IgG no se une a una diana especificada. Las secuencias de estos inmunoconjugados se proporcionan en SEC ID nº 305, 307 y 309 (DP47GS) y en SEC ID nº 319, 321 y 323 (CH1A1A).

Los constructos IgG-IL-2 se generaron mediante expresión transitoria en células HEK293 EBNA y se purificaron esencialmente tal como se ha descrito anteriormente para los constructos Fab-IL-2-Fab. Brevemente, se purificaron proteínas de fusión IgG-IL-2 mediante una etapa de afinidad con proteína A (HiTrap ProtA, GE Healthcare) equilibrada en fosfato sódico 20 mM, citrato sódico 20 mM, pH 7,5. Tras cargar el sobrenadante, la columna en primer lugar se lavó con fosfato

sódico 20 mM y citrato sódico 20 mM, pH 7,5, y posteriormente se lavó con fosfato sódico 13,3 mM, citrato sódico 20 mM y cloruro sódico 500 mM, pH 5,45. La proteína de fusión IgG-citoquina se eluyó con citrato sódico 20 mM, cloruro sódico 100 mM y glicina 100 mM, pH 3. Las fracciones se neutralizaron, se agruparon y se purificaron mediante cromatografía de exclusión por tamaño (HiLoad 16/60 Superdex 200, GE Healthcare) en tampón de formulación final: fosfato potásico 25 mM, cloruro sódico 125 mM, glicina 100 mM, pH 6,7. Se proporcionan posteriormente procedimientos y resultados ejemplares detallados para los constructos seleccionados. La concentración de proteínas de las muestras de proteínas purificadas se determinó mediante la medición de la densidad óptica (DO) a 280 nm, utilizando el coeficiente de extinción molar calculado basándose en la secuencia de aminoácidos. Se analizó mediante SDS-PAGE la pureza y el peso molecular de los inmunoconjugados en presencia y en ausencia de un agente reductor (1,4-ditiotreitol 5 mM) y se tiñeron con azul de Coomassie (SimpleBlue™ SafeStain, Invitrogen). Se utilizó el sistema de gel premoldeado NuPAGE® (Invitrogen) siguiendo las instrucciones del fabricante (geles de Tris-glicina al 4-20% o Bis-Tris al 3-12%). Se analizó el contenido agregado de inmunoconjugados utilizando una columna analítica de exclusión por tamaño Superdex 200 10/300GL (GE Healthcare) en MOPS 2 mM, NaCl 150 mM, NaN_3 al 0,02%, pH 7,3, tampón de migración a 25ºC.

Afinidad de unión a FAP

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

TABLA 2. Afinidad (K_D) de fragmentos Fab con diana en FAP para FAP determinada mediante SPR.

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

Ensayos de actividad biológica con inmunoconjugados de IL-2 dirigidos

La actividad biológica de los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab con diana en FAP o CSP y de inmunoconjugados IgG-IL-2 con diana en FAP, que comprendían IL-2 de tipo salvaje o mutante (cuádruple) se investigó en varios ensayos celulares en comparación con la IL-2 disponible comercialmente (proleuquina, Novartis, Chiron).

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

Se incubaron células NK92 en ayuno de IL-2 (100.000 células/pocillo en una placa de 96 pocillos en U) con diferentes concentraciones de inmunoconjugados de IL-2, que comprendían IL-2 de tipo salvaje o mutante (cuádruple), durante 24 horas en medio NK (MEM alfa de Invitrogen (nº 22561-021) suplementado con FCS al 10%, suero de caballo al 10%, 2-mercaptoetanol 0,1 mM, inositol 0,2 mM y ácido fólico 0,02 mM). Se recolectaron los sobrenadantes y se analizó la liberación de IFN-γ utilizando el kit ELISA II anti-IFN-γ humano de Becton Dickinson (nº 550612). La

proleuquina (Novartis) sirvió de control positivo para la activación mediada por IL-2 de las células.

Proliferación de células NK

Se extrajo sangre de voluntarios sanos en jeringas heparinizadas y se aislaron las PBMCs. Se aislaron células NK humanas intactas a partir de PBMCs utilizando el kit II de aislamiento de células NK humanas de Miltenyi Biotec (nº 130-091-152). Se comprobó la expresión de CD25 por parte de las células mediante citometría de flujo. Para los ensayos de proliferación, se incubaron 20.000 células NK humanas aisladas durante 2 días en un incubador humidificado a 37ºC, con 5% de CO_2 en presencia de diferentes inmunoconjugados de IL-2, comprendiendo IL-2 mutante de tipo salvaje o mutante (cuádruple). La proleuquina (Novartis) sirvió de control. Tras 2 días, se midió el contenido de ATP de los lisados celulares utilizando el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo de Promega (nº G7571/2/3). Se calculó el porcentaje de crecimiento fijando la concentración máxima de proleuquina en 100% de proliferación y las células no tratadas sin estímulo de IL-2 en una proliferación de 0%.

Ensayo de fosforilación de STAT5

Se extrajo sangre de voluntarios sanos en jeringas heparinizadas y se aislaron las PBMCs. Se trataron PBMCs con inmunoconjugados de IL-2, que comprendían IL-2 de tipo salvaje o mutante (cuádruple), a las concentraciones indicadas o con proleuquina (Novartis) a modo de control. Tras una incubación de 20 minutos a 37ºC, las PBMCs se fijaron con tampón Cytofix precalentado (Becton Dickinson nº 554655) durante 10 minutos a 37ºC, seguido de la permeabilización con tampón Phosflow Perm III (Becton Dickinson nº 558050) durante 30 minutos a 4ºC. Las células se lavaron dos veces con PBS que contenía BSA al 0,1% antes de realizar la tinción con FACS utilizando mezclas de anticuerpos para citometría de flujo para la detección de diferentes poblaciones celulares y la fosforilación de STAT5. Las muestras se analizaron utilizando un FACSCantoII con HTS de Becton Dickinson.

Se definieron las células NK 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 se definieron las células T_{reg} como $CD4^+CD25^+FoxP3^+$.

Proliferación y AICD de células T

Se extrajo sangre de voluntarios sanos en jeringas heparinizadas y se aislaron las PBMCs. Se aislaron las células T intactas utilizando el kit Pan II de aislamiento de células T de Miltenyi Biotec (nº 130-091-156). Las células T se preestimularon con 1 µg/ml de PHA-M (Sigma Aldrich nº L8902) durante 16 horas antes de añadir proleuquina o inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab, que comprendían IL-2 de tipo salvaje o mutante (cuádruple), a las células lavadas durante otros 5 días. Tras 5 días, se midió el contenido de ATP de los lisados celulares utilizando el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo de Promega (nº G7571/2/3). Se calculó la proliferación relativa fijando la concentración máxima de proleuquina en 100% de proliferación.

La exposición a fosfatidilserina (PS) y la muerte celular de las células T se sometieron a ensayo mediante análisis de citometría de flujo (FACSCantoII, BD Biosciences) de células teñidas con anexina V (kit de tinción de anexina V-FLUOS, Roche Applied Science) y yoduro de propidio (PI). Para inducir la muerte celular inducida por activación (AICD), las células T se trataron con un anticuerpo anti-Fas inductor de apoptosis (clon Millipore Ch11) durante 16 horas tras el tratamiento de 16 horas de PHA-M y de 5 días con inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab. La tinción con anexina V se llevó a cabo siguiendo las instrucciones del fabricante. Brevemente, las células se lavaron con tampón de unión Ann-V (solución madre 1x: Hepes 0,01 M/NaOH, pH 7,4, NaCl 0,14 M, $CaCl_2$ 2,5 mM) y se tiñeron durante 15 minutos a RT en la oscuridad con anexina V-FITC (Roche). Se lavaron nuevamente las células en tampón de unión Ann-V antes de la adición de 200 µl/pocillo de tampón de unión Ann-V que contenía PI (0,3 µg/ml). Las células se analizaron inmediatamente mediante citometría de flujo.

Unión a células que expresan FAP

La unión de los inmunoconjugados IgG-IL-2 qm de diana en FAP y Fab-IL-2 qm-Fab a FAP humana expresada sobre células HEK293 transfectadas establemente se midió mediante FACS. Brevemente, se incubaron 250.000 células por pocillo con la concentración indicada de los inmunoconjugados en una placa de 96 pocillos de fondo redondo, se incubaron durante 30 minutos a 4ºC y se lavaron una vez con

PBS/BSA al 0,1%. Se detectaron los inmunoconjugados unidos tras la incubación durante 30 minutos a 4ºC con fragmento $F(ab')_2$ AffiniPure de cabra específicamente anti-$F(ab')_2$ humano conjugado con FITC (Jackson ImmunoResearch Lab nº 109-096-097, solución de trabajo: 1:20 diluido en PBS/BSA al 0,1%, recién preparado) utilizando un FACS CantoII (Software FACS Diva).

Análisis de la internalización de FAP tras la unión según FACS

Para varios anticuerpos de FAP conocidos de la técnica se describe que inducen la internalización de FAP tras la unión (descrito en, por ejemplo, Baum *et al.*, J. Drug Target 15:399-406, 2007; Bauer *et al.*, Journal of Clinical Oncology, 2010 ASCO Annual Meeting Proceedings (edición posterior al congreso), vol. 28 (suplemento de 20 de mayo), resumen nº 13062 (2010); Ostermann *et al.*, Clin. Cancer Res. 14:4584-4592, 2008). De esta manera, los presentes inventores analizaron las propiedades de internalización de los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab de la invención. Brevemente, las células GM05389 (fibroblastos pulmonares humanos) cultivados en medio EMEM + FCS al 15%, se desengancharon, se lavaron, se contaron, se comprobó su viabilidad y se sembraron a una densidad de $2x10^5$ millones de células/pocillo en placas de 12 pocillos. Al día siguiente, los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab con diana en FAP se diluyeron en medio frío y se permitió que se uniesen a superficies celulares durante 30 minutos sobre hielo. El exceso de anticuerpo no unido se desprendió mediante lavado utilizando PBS frío y las células se incubaron adicionalmente en 0,5 ml de medio precalentado a 37ºC durante los periodos de tiempo indicados. Tras alcanzar los diferentes puntos temporales, las células se transfirieron a hielo, se lavaron una vez con PBS frío y se incubaron con el anticuerpo secundario (fragmento $F(ab')_2$ AffiniPure de cabra específicamente anti-$F(ab')_2$ humano conjugado con FITC, Jackson ImmunoResearch Lab nº 109-096-097, dilución 1:20) durante 30 minutos a 4ºC. A continuación, las células se lavaron dos veces con PBS/BSA al 0,1%, se transfirieron a una placa de 96 pocillos, se centrifugaron durante 4 minutos a 4ºC, 400 x g y se resuspendieron los pellets celulares mediante agitación con vórtex. Las células se fijaron utilizando 100 µl de PFA al 2%. Para la medición con FACS, las

células se resuspendieron en 200 µl/muestra de PBS/BSA al 0,1% y se midieron con el protocolo para placas en un aparato de FACS CantoII (Software FACS Diva).

Ejemplo 2

Los presentes inventores diseñaron versiones mutadas de IL-2 que comprendían una o más de las mutaciones siguientes (en comparación con la secuencia de tipo salvaje de IL-2 mostrada en SEC ID nº 1):

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

Un polipéptido IL-2 mutante que comprende la totalidad de las mutaciones 1 a 4 se denota en la presente memoria como IL-2 mutante cuádruple (qm). Puede comprender además la mutación 5 (ver SEC ID nº 19).

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

Para los fines de purificación, se introdujo una etiqueta His6 en el extremo C-terminal unido mediante una secuencia VD. A título comparativo, se generó una versión análoga no mutada de IL-2 que únicamente contenía la mutación C145A para evitar puentes disulfuro intermoleculares no deseados (SEC ID nº 3). Los pesos moleculares respectivos sin secuencia de señal eran de 16.423 D para la IL-2 desnuda y de 16.169 D para la IL-2 qm desnuda. Las IL-2 de tipo salvaje y mutante cuádruple con etiqueta His se transfectaron en células HEK EBNA en medio libre de suero (medio F17). El sobrenadante filtrado se intercambió por

tampón en un flujo cruzado, antes de cargarlo en cartucho NiNTA Superflow (5 ml, Qiagen). La columna se lavó con tampón de lavado: fosfato sódico 20 mM, cloruro sódico 0,5 M, pH 7,4, y se eluyó con tampón de elución: fosfato sódico 20 mM, cloruro sódico 0,5 M e imidazol 0,5 M, pH 7,4. Tras cargar la columna, se lavó con 8 volúmenes de columna (VC) de tampón de lavado, 10 CV de tampón de elución al 5% (corresponde a imidazol 25 mM), eluyendo después con un gradiente hasta imidazol 0,5 M. El eluido agrupado se pulió mediante cromatografía de exclusión por tamaño en una columna HiLoad 16/60 Superdex75 (GE Healthcare) en MOPS 2 mM, cloruro sódico 150 mM y azida sódica al 0,02%, pH 7,3. La figura 2 muestra el cromatograma de la purificación con etiqueta His para la IL-2 desnuda de tipo salvaje. El "pool" 1 se preparó a partir de las fracciones 78 a 85, el "pool" 2 a partir de las fracciones 86 a 111. La figura 3 muestra el cromatograma de la cromatografía de exclusión por tamaño de la IL-2 de tipo salvaje; para cada "pool" se agruparon las fracciones 12 a 14. La figura 4 muestra la cromatografía analítica de exclusión por tamaño para la IL-2 de tipo salvaje ddeterminada en una columna Superdex 75 10/300 GL (GE Healthcare) en MOPS 2 mM, cloruro sódico 150 mM y azida sódica al 0,02%, pH 7,3. Los "pools" 1 y 2 contenían 2 proteínas de aproximadamente 22 y 20 kDa. El "pool" presentaba más de la proteína grande, y el "pool" 2 presentaba más de la proteína pequeña; putativamente esta diferencia se debía a diferencias de O-glucosilación. Los rendimientos fueron de aproximadamente 0,5 mg/l de sobrenadante para el "pool" 1 y de aproximadamente 1,6 mg/l de sobrenadante para el "pool" 2. La figura 5 muestra el cromatograma de la purificación con etiqueta His para la IL-2 mutante cuádruple. El "pool" 1 se preparó a partir de las fracciones 59 a 91, el "pool" 2, a partir de las fracciones 92 a 111. La figura 6 muestra el cromatograma de la cromatografía de exclusión por tamaño de la IL-2 mutante cuádruple; en este caso únicamente se reservó el "pool" 2, que agrupaba las fracciones 12 a 14. La figura 7 muestra la cromatografía analítica de exclusión por tamaño para la IL-2 mutante cuádruple determinada en una columna Superdex 75 10/300 GL (GE Healthcare) en MOPS 2 mM, cloruro sódico 150 mM y azida sódica al 0,02%, pH 7,3. La preparación para la IL-2 mutante cuádruple desnuda contenía únicamente una proteína de 20 kD. En esta proteína se ha inactivado el sitio de O-glucosilación. Se almacenaron alícuotas de la IL-2 desnuda de tipo salvaje y mutante cuádruple a -80ºC. Los rendimientos fueron de aproximadamente 0,9 mg/l de sobrenadante.

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

Posteriormente, se determinaron la afinidad para el heterodímero IL-2R βγ y la subunidad α de IL-2R mediante resonancia de plasmón superficial (SPR). Brevemente, el ligando (subunidad α de IL-2R humano (Fc2) o heterodímero botón β ojal γ de IL-2R humano (Fc3)) se inmovilizó en un chip CM5. A continuación, la IL-2 desnuda de tipo salvaje ("pools" 1 y 2) o la IL-2 mutante cuádruple, y la proleuquina (Novartis/Chiron) se aplicaron al chip en forma de analitos a 25ºC en tampón HBS-EP a concentraciones comprendidas entre 300 nM y 1,2 nM (dil. 1:3). El caudal era de 30 µl/minuto y se aplicaron las condiciones siguientes para la asociación: 180 s, disociación: 300 s, y regeneración: 2 x 30 s, $MgCl_2$ 3 M para el heterodímero botón β ojal γ de IL-2R, 10 s NaOH 50 mM para la subunidad α de IL-2R. Se aplicó una unión 1:1 para el ajuste (unión 1:1 RI≠0, Rmax=local para IL-2R βγ, K_D aparente, unión 1:1 RI=0, Rmax=local para IL-2Rα). La Tabla 3 muestra los valores respectivos de K_D para la unión de la IL-2 humana de tipo salvaje y mutante cuádruple, así como de proleuquina, a IL-2Rβγ y a la subunidad α de IL-2R.

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

K_D en nM T = 25°C	**IL-2R hu βγ (cinética)**	**IL-2R hu α (cinética)**	**IL-2R hu α (equilibrio)**
IL-2 desnuda wt, pool 1	5,6 5	17,4 16,6	30,3 23,9
IL-2 desnuda wt, pool 2	2,8 1,8	10,6 10	19,7 17,6

IL-2 qm desnuda	2,7 2	Falta de unión	Falta de unión
Proleuquina	2,4 2,8	7,5 12,5	19 17,8

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

Ejemplo 3

Se introdujeron las tres mutaciones F42A, Y45A y L72G y la mutación T3A en el formato Fab-IL-2-Fab (figura 1A) utilizando el anticuerpo 4G8 anti-FAP como dominio de dianización modelo, en forma de mutantes simples: 1) 4G8 IL-2 T3A, 2) 4G8 IL-2 F42A, 3) 4G8 IL-2 Y45A, 4) 4G8 IL-2 L72G, o se combinaron en los constructos Fab-IL-2 mt-FAB en forma de: 5) triple mutante F42A/Y45A/L72G, o en forma de: 6) mutante cuádruple T3A/F42A/Y45A/L72G para inactivar también el sitio de O-glucosilación. El constructo Fab-IL-2- wt-Fab basado en 4G8 se utilizó a título comparativo. Todos los constructos contenían la mutación C145A para evitar los dímeros de IL-2 puenteados con disulfuro. Los diferentes constructos Fab-IL-2-Fab se expresaron en células HEK 293 y se purificaron tal como se ha descrito anteriormente, con proteína A y cromatografía de exclusión por tamaño tal como se ha especificado anteriormente. A continuación, la afinidad de las variantes de IL-2 seleccionadas para el heterodímero IL-2R βγ humano y murino y para la subunidad α de IL-2R humano y murino se determinaron mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) (Biacore) utilizando el heterodímero recombinante IL-2R βγ y la subunidad α de IL-2R monomérica, bajo las condiciones siguientes: La subunidad α de IL-2R se inmovilizó a dos densidades y la celda de flujo con la mayor inmovilización se utilizó para los mutantes que habían perdido la unión a CD25. Se

utilizaron las condiciones siguientes: inmovilización química: heterodímero IL-2R βγ humano 1675 RU; heterodímero IL-2R βγ de ratón 5094 RU; subunidad α de IL-2R humano 1019 RU; subunidad α de IL-2R humano 385 RU; subunidad α de IL-2R humano 1182 RU; subunidad α de IL-2R murino 378 RU, temperatura: 25ºC, analitos: Constructos Fab-variantes de IL-2-Fab de 4G8 3,1 nM a 200 nM, caudal: 40 µl/minuto, asociación: 180 s, disociación: 180 s, regeneración: glicina 10 mM, pH 1,5, 60 s, 40 µl/minuto. Ajuste: modelo de reacción en dos estados (cambio conformacional), RI=0, Rmax=local. Los resultados del análisis cinético se proporcionan en la Tabla 4.

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

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

Se mostró mediante SPR la unión simultánea al heterodímero IL-2R βγ y FAP. Brevemente, el constructo botón-en-ojal IL-2R βγ humano se inmovilizó en un chip CM5 químicamente y se capturaron constructos Fab-IL-2-Fab 10 nM durante 90 s. La FAP humana sirvio como analito a concentraciones de 200 nM a 0,2 nM. Las condiciones fueron: temperatura: 25ºC, tampón: HBS-EP, caudal: 30 µl/minuto, asociación: 90 s, disociación: 120 s. La regeneración se realizó durante 60 s con

glicina 10 mM, pH 2. El ajuste se llevó a cabo con un modelo de unión 1:1, RI≠ 0, Rmax=global. El ensayo de formación de puentes de SPR demostró que los constructos Fab-IL-2-Fab, tanto el tipo salvaje como el mutante cuádruple, así como el basado en el ligante de FAP 28H1 de afinidad madurada o los anticuerpos 3F2 ó 4G8 parentales, fueron capaces de unirse a una concentración de 10 nM simultáneamente al heterodímero IL-2R βγ inmovilizado sobre el chip, así como a la FAP humana utilizada como analito (figura 8). Las afinidades determinadas se muestran en la Tabla 5.

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

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

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

mutantes, aunque globalmente IL-2 muestra menos toxicidad en roedores que en el ser humano.

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

Ejemplo 4

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

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

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

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

A continuación, la inducción de la proliferación de células NK humanas aisladas por parte de inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab se evaluó en un ensayo de proliferación (Cell Titer Glo, Promega) (figura 10). En contraste con las células NK92, las células NK recién aisladas no expresan CD25 (o únicamente cantidades muy reducidas). Los resultados demuestran que el inmunoconjugado Fab-IL-2-Fab que comprende IL-2 de tipo salvaje era aproximadamente 10 veces menos potente en la inducción de la proliferación de las células NK que la proleuquina, tal como se esperaría de una afinidad aproximadamente 10 veces inferior del inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab para el heterodímero IL-2R βγ. La introducción de mutaciones sencillas que

interfieren con la unión de CD25, así como la combinación de las tres mutaciones que interfieren con la unión de CD25 en la IL-2 triple mutante resultó en constructos Fab-IL-2-Fab que eran comparables al constructo de IL-2 de tipo salvaje en términos de potencia e inducción absoluta de la proliferación; únicamente se produjo un cambio muy reducido de potencia observado para Fab-IL-2-Fab triple mutante. En un segundo experimento, se evaluó la inducción de la proliferación de las células T activadas por PHA tras la incubación con diferentes cantidades de proleuquina y de los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab (figura 11). Debido a que las células T activadas expresan CD25, pudo observarse una clara reducción de la proliferación de las células T tras la incubación con los inmunoconjugados que comprenden los mutantes sencillos F42A, L72G o Y45A de IL2, mostrando F42A la reducción más fuerte, seguido de L72G e Y45A, mientras que al utlizar Fab-IL-2 wt-Fab o Fab-IL-2 (T3A)-Fab, la activación prácticamente prácticamente se mantuvo constante en comparación con la proleuquina. Estos datos reflejan la reducción de la afinidad para CD25 según determinación mediante SPR (Ejemplo anterior). La combinación de las tres mutaciones que interfieren con la unión de CD25 en la IL-2 triple mutante resultó en un inmunoconjuado que mediaba en una inducción significativamente reducida de la proliferación de las células T en solución. En línea con estos resultados, los presentes inventores midieron la muerte celular de las células T según se determinó mediante tinción con anexina V/PI tras la sobreestimulación inducida por una primera estimulación durante 16 horas con 1 µg/ml de PHA, una segunda estimulación durante 5 días con proleuquina o los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab respectivos, seguido de una tercera estimulación con 1 µg/ml de PHA. En este contexto, los presentes inventores observaron que la muerte celular inducida por activación (AICD) en células T sobreestimuladas resultaba fuertemente reducida con los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab que comprendían las IL-2 mutantes sencillos F42A, L72G e Y45A interfirientes con la unión de CD25, mostrando F42A y L72G la reducción más fuerte, que era similar a la reducción conseguida mediante la combinación de las tres mutaciones en el inmunoconjugado que comprendía la IL-2 triple mutante (figura 12). En el último conjunto de experimentos, los presentes inventores estudiaron los efectos de Fab-IL-2 qm-Fab sobre la inducción de la fosforilación de STAT5 en comparación con Fab-IL-2 wt-Fab y proleuquina en células NK humanas, células T $CD4^+$, células T $CD8^+$ y células T_{reg} procedentes de PBMCs humanas (figura 13). Para las células

NK y las células T $CD8^+$ que muestran un nivel de expresión de C25 nulo o muy bajo (es decir, la señalización de IL-2R se encuentra mediada por el heterodímero IL-2R βγ), los resultados demuestran que el formato Fab-IL-2-Fab que comprende IL-2 de tipo salvaje era aproximadamente 10 veces menos potente en la inducción de la fosforilación de STAT5 que la proleuquina, y que la Fab-IL-2 qm-Fab era comparable al constructo Fab-IL-2 wt-Fab. En las células T $CD4^+$, que mostraban una rápida regulación positiva de CD25 al ser estimuladas, Fab-IL-2 qm-Fab resultó ser menos potente que el inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab, aunque todavía mostró una inducción comparable de la señalización de IL-2R a concentraciones de saturación. Esto contrasta con las células T_{reg}, en las que la potencia de Fab-IL-2 qm-Fab se encontraba significativamente reducida en comparación con el inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab debido a la elevada expresión de CD25 sobre las células T_{reg} y la posterior elevada afinidad de unión del inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab para CD25 sobre las células T_{reg}. Como consecuencia de la eliminación de la unión de CD25 en el inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab, la señalización de IL-2 en células T_{reg} únicamente resultó activada por el heterodímero IL-2R βγ a concentraciones a las que la señalización de IL-2R resulta activada sobre las células efectoras CD25-negativas por el heterodímero IL-2R βγ. Conjuntamente los resultados indican que la IL-2 mutante cuádruple descrita en la presente memoria es capaz de activar la señalización de IL-2R mediante el heterodímero IL-2R βγ, pero no resulta en AICD ni en una estimulación preferente de las células T_{reg} respecto a otras células efectoras.

Ejemplo 5

Basándose en los datos proporcionados en los Ejemplos 2 y 3, se generaron y purificaron los inmunoconjugados Fab-IL-2 qm-Fab de afinidad madurada con diana en FAP basados en los clones 28H1 ó 29B11 tal como se ha descrito anteriormente, en la sección de métodos generales. En mayor detalle, se purificó en una etapa de afinidad (proteína G) Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 dirigido a FAP, seguido de cromatografía de exclusión por tamaño (Superdex 200). Se llevó a cabo la equilibración de la columna en PBS y el sobrenadante de un "pool" estable de CHO (medio CDCHO) se cargó en una columna de proteína G (GE Healthcare), la columna se lavó con PBS y las muestras posteriormente se eluyeron con HCl 2,5

mM y las fracciones se neutralizaron inmediatamente con 10x PBS. Se llevó a cabo una cromatografía de exclusión por tamaño en el tampón de formulación final: fosfato sódico 25 mM, cloruro sódico 125 mM, glicina 100 mM, pH 6,7 en una columna Superdex 200. La figura 14 muestra los perfiles de elución de la purificación y los resultados de la caracterización analítica del producto mediante SDS-PAGE (minigel NuPAGE de Novex con Bis-Tris al 4-20%, Invitrogen, tampón de migración MOPS, reducido y no reducido). Dada la baja capacidad de unión del fragmento Fab de 28H1 a proteína G y a proteína A, las etapas adicionales de captura pueden resultar en rendimientos más altos.

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

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

transitoria fueron de 42 mg/l para el imunoconjugado IG-IL-2 qm basado en 4G8 y de 20 mg/ml para el basado en 28H1.

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

TABLA 7.

K_D [pM]	**FAP hu**
IgG-IL-2 qm de 4G8	100
IgG 4G8	50
IgG-IL-2 qm de 28H1	175
IgG de 28H1	200

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

Ejemplo 6

Se determinó la afinidad de los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab basados en 28H1 y en 29B1 de afinidad madurada con diana en FAP, comprendiendo cada uno IL-2 de tipo salvaje o mutante cuádruple, y de Fab-IL-2 wt-Fab basado en 3F2, mediante

resonancia de plasmón superficial (SPR) para el heterodímero IL-2R βγ humano, murino y de mono Cynomolgus utilizando el heterodímero recombinante IL-2R βγ bajo las condiciones siguientes: ligando: heterodímero IL-2R botón β ojal γ humano, murino y de mono Cynomolgus, inmovilizado sobre un chip CM5, analito: Fab-IL-2-Fab 28H1 ó 29B11 (que comprende IL-2 de tipo salvaje o mutante cuádruple), Fab-IL-2-Fab de 3F2 (que comprende IL-2 de tipo salvaje), temperatura: 25ºC ó 37ºC, tampón: HBS-EP, concentración de analito: 200 nM cayendo hasta 2,5 nM, caudal: 30 µl/minuto, asociación: 300 s, disociación: 300 s, regeneración: 60 s $MgCl_2$ 3 M, ajuste: unión 1:1, RI≠0, Rmax=global. Se determinó la afinidad de los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab basados en 28H1 y en 29B1 de afinidad madurada con diana en FAP, comprendiendo cada uno IL-2 de tipo salvaje o mutante cuádruple, y de Fab-IL-2 wt-Fab basado en 3F2, mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) para la subunidad α de IL-2R humana, murina y de mono Cynomolgus utilizando la subunidad α de IL-2R monomérico recombinante bajo las condiciones siguientes: ligando: subunidad α de IL-2R humana, murina y de mono Cynomolgus, inmovilizado sobre un chip CM5, analito: Fab-IL-2-Fab 28H1 ó 29B11 (que comprende IL-2 de tipo salvaje o mutante), Fab-IL-2-Fab de 3F2 (que comprende IL-2 de tipo salvaje), temperatura: 25ºC ó 37ºC, tampón: HBS-EP, concentración de analito: 25 nM cayendo hasta 0,3 nM, caudal: 30 µl/minuto, asociación: 120 s, disociación: 600 s, regeneración: ninguna, ajuste: unión 1:1, RI≠0, Rmax=global.

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

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

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

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

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

TABLA 9. Unión de los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab que comprenden Fab de afinidad madurada e IL-2 mutante para las subunidades α de IL-2R

K_D en nM	**IL-2R hu α (25ºC)**	**IL-2R hu α (37ºC)**	**IL-2R α cyno (25ºC)**	**IL-2R α cyno (37ºC)**	**IL-2R α mu (25ºC)**	**IL-2R α mu (37ºC)**
Fab-IL-2 wt-Fab de 28H1	16 16,2	28,8 28,2	16 16,2	36,5 35,6	43,3 44	67,5 61,1

Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1	Falta de unión	Falta de unión	Falta de unión	Falta de unión	Falta de unión	Falta de unión
Fab-IL-2 wt-Fab de 29B11	5 4,6	7,6 7,7	4,8 4,3	7,3 7,4	11,4 9,6	13,3 13,8
Fab-IL-2 qm-Fab de 29B11	Falta de unión	Falta de unión	Falta de unión	Falta de unión	Falta de unión	Falta de unión
Fab-IL-2 de 3F2 Fab-wt	5,7 6,1	ND	5 5,4	ND	12,3 12,1	ND

La afinidad de los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab de MHLG1-KV9 con diana en MCSP, que comprenden la IL-2 de tipo salvaje o la IL-2 mutante cuádruple, para el heterodímero IL-2R βγ humano se determinó mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) utilizando el heterodímero IL-2R βγ recombinante bajo las condiciones siguientes: el heterodímero IL-2R botón β ojal γ humano se inmovilizó sobre un chip CM5 (1.600 RU). Se utilizaron Fab-IL-2 wt-Fab y Fab-IL-2 qm-Fab de MHLG1-KV9 como analito a 25ºC en tampón HBS-P. La concentración de analito era de 300 nM cayendo a 0,4 nM (dil. 1:3) para IL-2R βγ a un caudal de 30 µl/minuto (tiempo de asociación: 180 s, tiempo de disociación: 300 s). Se realizó la regeneración durante 2x30 s con MgCl2 3 M para IL-2R βγ. Los datos se ajustaron utilizando una unión 1:1, RI≠0, Rmax=local para IL-2R βγ.

La afinidad de los inmunoconjugados Fab-IL-2-Fab de MHLG1-KV9 con diana en MCSP, que comprenden la IL-2 de tipo salvaje o la IL-2 mutante cuádruple, para la subunidad α de IL-2R humano se determinó mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) utilizando la subunidad α de IL-2R monomérico recombinante bajo las condiciones siguientes: la subunidad α de IL-2R humano se inmovilizó sobre un chip CM5 (190 RU). Se utilizaron Fab-IL-2 wt-Fab y Fab-IL-2 qm-Fab de MHLG1-KV9 como analito a 25ºC en tampón HBS-P. La concentración de analito era de 33,3 nM cayendo a 0,4 nM (dil. 1:3) para IL-2R α a un caudal de 30 µl/minuto (tiempo de asociación: 180 s, tiempo de disociación: 300 s). Se realizó la

regeneración durante 10 s con NaOH 50 mM para IL-2R α. Los datos se ajustaron utilizando una unión 1:1, RI=0, Rmax=global para IL-2R α.

Los resultados del análisis cinético con el heterodímero IL-2R βγ se proporcionan en la Tabla 10.

TABLA 10.

K_D en nM T = 25°C	**IL-2R hu βγ (cinética)**	**IL-2R hu α (cinética)**	**IL-2R hu α (equilibrio)**
Fab-IL-2 wt-Fab de MHLG1-KV9	8,6 9,8	8,8 10,1	6,8 10,9
Fab-IL2 qm-Fab de MHLG1-KV9	7,3 10,7	Falta de unión	Falta de unión

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

A continuación, se determinó la afinidad de los inmunoconjugados IgG-IL-2 qm basados en 4G8 y en 28H1 para el heterodímero IL-2R βγ y para la subunidad α de IL-2R, mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) en comparación directa con el formato de inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab. Brevemente, los ligandos (la subunidad de IL-2R o el heterodímero IL-2R βγ) se inmovilizaron sobre un chip CM5. A continuacion, los inmunoconjugados IgG-IL-2 basados en 4G8 y en 28H1 o los inmunoconjugados Fab-IL-2 qm-Fab basados en 4G8 y en 28H1 se aplicaron al chip a modo de analitos a 25ºC en tampón HBS-EP a concentraciones comprendidas entre 300 nM cayendo a 1,2 nM (dil. 1:3). El caudal era de 30 µl/minuto y se aplicaron las condiciones siguientes para la asociación: 180 s, disociación: 300 s, y regeneración: 2x30 s con $MgCl_2$ 3 M para el heterodímero IL-2R βγ, 10 s con NaOH 50 mM para la subunidad α de IL-2R. Se aplicó una unión 1:1 para el ajuste (unión 1:1 RI≠0, Rmax=local para IL-2R βγ, K_D aparente, unión

1:1 RI=0, Rmax=local para IL-2Rα). Los valores K_D respectivos se proporcionan en la Tabla 11.

TABLA 11.

K_D aparente [nM]	**IL-2R hu βγ**	**IL-2R hu α**
IgG-IL-2 qm de 4G8	5,9	Falta de unión
Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8	10,4	Falta de unión
IgG-IL-2 qm de 28H1	6,2	Falta de unión
Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1	11,4	Falta de unión

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

Ejemplo 7

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

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

Valores de EC_{50}	**nM**
Fab-IL-2-Fab de 28H1	0,64
Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1	0,70
Fab-IL-2-Fab de 29B11	0,66

Fab-IL-2 qm-Fab de 29B11	0,85
Fab-IL-2-Fab de 4G8	0,65

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

En un experimento adicional, la unión de los inmunoconjugados IgG-IL-2 qm y Fab-IL-2 qm-Fab basados en 4G8 con diana en FAP expresados sobre células HEK293 transfectadas establemente se midió mediante FACS. Se muestran los resultados en la figura 48. Los datos demuestran que el inmunoconjugado IgG-IL-2 qm se une a las células expresantes de FAP con un valor de EC50 de 0,9 nM, comprable al del constructo Fab-IL-2 qm-Fab basado en 4G8 correspondiente (0,7 nM).

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

Se midió la liberación de IFN-γ inducida por IL-2 en el sobrenadante mediante ELISA tras la incubación de la línea NK92 de células NK con dichos inmunoconjugados (figura 21) durante 24 horas. Las células NK92 expresan CD25 sobre su superficie. Los resultados muestran que el inmunoconjugado Fab-IL-2-Fab que comprende IL-2 de tipo salvaje era menos potente en la inducción de la liberación de IFN-γ que la proleuquina, tal como sería de esperar a partir de la

afinidad aproximadamente 10 veces inferior del inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab para el heterodímero IL-2R βγ. Los inmunoconjugados Fab-IL-2 qm-Fab eran bastante comparables al constructo de tipo salvaje respectivo para un clon seleccionado en términos de potencia y de inducción absoluta de la liberación de IFN-γ a pesar del hecho de que las células NK92 expresan cierta cantidad de CD25. Sin embargo, pudo observarse que el Fab-IL-2 qm-Fab de 29B11 indujo una menor liberación de citoquina en comparación con Fab-IL-2 wt-Fab de 29B11, así como los constructos de 28H1 y de 4G8, para los que únicamente se produjo un pequeño cambio de potencia observado para Fab-IL-2 qm-Fab respecto a Fab-IL-2 wt-Fab.

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

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

En un experimento posterior, los presentes inventores estudiaron los efectos del inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 dirigido a FAP de afinidad madurada de sobre la inducción de la fosforilación de STAT5 en comparación con Fab-IL-2 wt-Fab de 28H1 y con proleuquina en células NK humanas, células T $CD4^+$, células T $CD8^+$ y células T_{reg} procedentes de PBMCs humanas (figura 24). Para las células NK y las células T $CD8^+$, las cuales muestran un nivel de expresión de C25 nulo o muy bajo (es decir, la señalización de IL-2R se encuentra mediada por el heterodímero IL-2R βγ), los resultados demuestran que el inmunoconjugado Fab-IL-

2-Fab que comprende IL-2 de tipo salvaje era aproximadamente 10 veces menos potente en la inducción de la liberación de IFN-γ que la proleuquina, y que el inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab era sólo muy ligeramente menos potente que el constructo Fab-IL-2 wt-Fab. En las células T $CD4^+$ que muestran una rápida regulación positiva de CD25 al ser estimuladas, Fab-IL-2 qm-Fab resultó ser menos potente que el inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab, aunque todavía mostró una inducción comparable de la señalización de IL-2R a concentraciones de saturación. Esto contrasta con las células T_{reg}, en las que la potencia de Fab-IL-2 qm-Fab se encontraba significativamente reducida en comparación con el constructo Fab-IL-2 wt-Fab debido a la elevada expresión de CD25 sobre las células T_{reg} y la consecuente elevada afinidad de unión del inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab para CD25 sobre las células T_{reg}. Como consecuencia de la eliminación de la unión de CD25 en el inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab, la señalización de IL-2 en células T_{reg} únicamente resultó activada por el heterodímero IL-2R βγ a concentraciones a las que la señalización de IL-2R sobre las células efectoras CD25-negativas resulta activada por el heterodímero IL-2R βγ. Los valores pM EC_{50} respectivos se proporcionan en la Tabla 13.

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

EC_{50} [pM]	**Células NK**	**Células T $CD8^+$**	**Células T $CD4^+$**	**Células T_{reg}**
Proleuquina	222	1071	92	1
Fab-IL-2 wt-Fab de 28H1	3319	14458	3626	15
Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1	3474	20583	70712	19719

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

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

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

Conjuntamente los resultados indican que la IL-2 mutante cuádruple descrita en la presente memoria es capaz de activar la señalización de IL-2R mediante el heterodímero IL-2R βγ de modo similar a la IL-2 de tipo salvaje, pero que no resulta en una estimulación preferente de las células T_{reg} respecto a otras células efectoras.

Ejemplo 8

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

Modelo de xenoinjerto de carcinoma renal ACHN

Se sometieron a ensayo inmunoconjugados Fab-IL-2 wt-Fab y Fab-IL-2 qm-Fab basados en 4G8 con diana en FAP, utilizando la línea celular ACHN de adenocarcinoma de las células renales, inyectados intrarrenalmente en ratones transgénicos para FcγRIII SCID-humanos. Las células ACHN se obtuvieron originalmente de la ATCC (American Type Culture Collection) y tras la expansión se depositaron en el banco celular propio de Glycart. Las células ACHN se cultivaron en DMEM que contenía FCS al 10%, a 37ºC en una atmósfera saturada de agua con 5% de CO_2. Se utilizó el pase 18 *in vitro* para la inyección intrarrenal, con una viabilidad de 98,4%. Se realizó una pequeña incisión (2 cm) en el flanco derecho y pared peritoneal de ratones SCID anestesiados. Se inyectaron cincuenta µl de suspensión celular ($1x10^6$ células ACHN en medio AimV) 2 mm subescapularmente en el riñón. Se cerraron las heridas de la piel y de la pared peritoneal con grapas. Los ratones SCID-FcγRIII hembra (GLYCART-RCC), de 8 a 9 semanas de edad al inicio del experimento (criados en RCC, Suiza) se mantuvieron bajo condiciones libres de patógenos con ciclos diarios de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad de

acuerdo a directrices acordadas (GV-Solas, Felasa, TierschG). El protocolo del estudio experimental fue revisado y autorizado por el gobierno local (P 2008016). Tras su llegada, los animales se mantuvieron durante una semana para que se aclimatasen al nuevo entorno y para su observación. Se llevó a cabo un seguimiento continuo periódico de su estado de salud. Los ratones recibieron inyecciones intrarrenales el día de estudio 0 de $1x10^6$ células ACHN, se agruparon aleatoriamente y se pesaron. Una semana después de la inyección de células tumorales, los ratones recibieron i.v. Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 y Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8 tres veces a la semana durante tres semanas. Todos los ratones recibieron inyecciones i.v. de 200 µl de la solución apropiada. Los ratones en el grupo de vehículo recibieron inyecciones de PBS y los grupos de tratamiento, inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab o Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8. Con el fin de obtener la cantidad correcta de inmunoconjugado por cada 200 µl, las soluciones madre se diluyeron con PBS en caso necesario. La figura 25 muestra que ambos inmunoconjugados, Fab-IL-2 wt-Fab y Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8, mediaron en una eficacia superior en términos de mediana incrementada de la supervivencia en comparación con el grupo de vehículo, con una ventaja para el inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 frente a Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8 en términos de eficacia.

TABLA 14-A.

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

Modelo singénico LLC1 de carcinoma pulmonar de Lewis

Los inmunoconjugados Fab-IL2 qm-Fab de 4G8 y Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 con diana en FAP se sometieron a ensayo utilizando la línea celular LLC1 de carcinoma pulmonar de Lewis de ratón, inyectada i.v. en ratones Black 6. Las células LLC1 de carcinoma pulmonar de Lewis se obtuvieron originalmente de la ATCC y tras la expansión se depositaron en el banco celular propio de Glycart. La línea celular tumoral se cultivó rutinariamente en DMEM que contenía FCS al 10% (Gibco) a 37ºC en una atmósfera saturada de agua con 5% de CO_2. Se utilizó el pase 10 para el trasplante, con una viabilidad de 97,9%. Se inyectaron i.v. $2x10^6$ células por animal en la vena de la cola en 200 µl de medio de cultivo celular Aim V (Gibco). Los ratones Black 6 (Charles River, Alemania), de 8 a 9 semanas de edad al inicio del experimento se mantuvieron bajo condiciones específicas libres de patógenos con ciclos diarios de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad de acuerdo a directrices acordadas (GV-Solas, Felasa, TierschG). El protocolo del estudio experimental fue revisado y autorizado por el gobierno local (P 2008016). Tras su llegada, los animales se mantuvieron durante una semana para que se aclimatasen al nuevo entorno y para su observación. Se llevó a cabo un seguimiento continuo periódico de su estado de salud. Los ratones recibieron inyecciones i.v. el día de estudio 0 de $2x10^5$ células LLC1, se agruparon aleatoriamente y se pesaron. Una semana después de la inyección de células tumorales, los ratones recibieron i.v. Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8 y Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 tres veces a la semana durante tres semanas. Todos los ratones recibieron inyecciones i.v. de 200 µl de la solución apropiada. Los ratones en el grupo de vehículo recibieron inyecciones de PBS y los grupos de tratamiento, inmunoconjugado Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8 o Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1. Con el fin de obtener la cantidad correcta de inmunoconjugado por cada 200 µl, las soluciones madre se diluyeron con PBS en caso necesario. La figura 26 muestra que los constructos Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8 ó Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 mediaron en una eficacia superior en términos de una mediana incrementada de la supervivencia en comparación con el grupo de vehículo.

TABLA 14-B.

Compuesto	**Dosis**	**Tampón de formulación**	**Concentración (mg/mL)**
Fab-IL-2-Fab	30 µg	Fosfato potásico 25 mM,	2,74

mutante cuádruple de 28H1=FAP 28H1 qm		NaCl 125 mM, Glicina 10 mM, pH 6,7	
Fab-IL-2-Fab mutante cuádruple de 4G8= FAP 4G8 qm	30 µg	Fosfato potásico 25 mM, NaCl 125 mM, Glicina 10 mM, pH 6,7	4,25

En otro experimento, los inmunoconjugados Fab-IL2 wt-Fab de 28H1 y Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 con diana en FAP se sometieron a ensayo utilizando la misma línea celular LLC1 de carcinoma pulmonar de Lewis de ratón, inyectada i.v. en ratones Black 6. Se utilizó el pase 9 para el trasplante, con una viabilidad de 94,5%. Se inyectaron i.v. $2x10^6$ células por animal en la vena de la cola en 200 µl de medio de cultivo celular Aim V (Gibco). Los ratones recibieron inyecciones i.v. el día de estudio 0 de $2x10^5$ células LLC1, se agruparon aleatoriamente y se pesaron. Una semana después de la inyección de células tumorales, los ratones recibieron i.v. Fab-IL-2 wt-Fab de 28H1 y Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 tres veces a la semana durante tres semanas. Todos los ratones recibieron inyecciones i.v. de 200 µl de la solución apropiada. Los ratones en el grupo de vehículo recibieron inyecciones de PBS y el grupo de tratamiento, de constructos Fab-IL-2 wt-Fab de 28H1 ó Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1. Con el fin de obtener la cantidad correcta de inmunoconjugado por cada 200 µl, las soluciones madre se diluyeron con PBS en caso necesario. La figura 27 muestra que ambos inmunoconjugados, Fab-IL-2 wt-Fab y Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1, mediaron en una eficacia superior en términos de mediana incrementada de la supervivencia en comparación con el grupo de vehículo, con una ligera ventaja para el inmunoconjugado Fab-IL-2 wt-Fab de 28H1 frente a Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1 en términos de eficacia.

TABLA 14-C.

Compuesto	**Dosis**	**Tampón de formulación**	**Concentración (mg/mL)**
Fab-IL-2-Fab mutante	45 µg	Fosfato potásico 25 mM,	2,74

cuádruple de 28H1=FAP 28H1 qm		NaCl 125 mM, Glicina 10 mM, pH 6,7	
Fab-IL-2-Fab de tipo salvaje de 28H1= FAP 28H1 wt	45 µg	Fosfato potásico 25 mM, NaCl 125 mM, Glicina 10 mM, pH 6,7	1,66

Ejemplo 9

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

TABLA 15. Diseño de los estudios.

Grupo	**Tipo**	**Dosis [µg/g]**	**Objetivo**
1	DPBS	0	Control
2	Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8	4,5	Titulación de la toxicidad
3		9,0	
4	Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8	4,5	
5		9,0	
6	Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8	4,5	Estudio toxicocinético
7		9,0	
8	Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8	4,5	
9		9,0	

El objetivo del presente estudio era caracterizar y comparar los perfiles de toxicidad y toxicocinéticos de Fab-IL2-Fab de tipo salvaje (wt) de 4G8 con diana en FAP interleuquina-2 (IL-2) y Fab-IL-2-Fab mutante cuádruple de G48 con diana en FAP

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

Toxicocinética

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

TABLA 16.

Parámetro	Units	Grupo 8 4G8 FAP IL-2 de tipo salvaje	Grupo 7 4G8 FAP IL-2 de tipo salvaje	Grupo 8 4G8 FAP IL-2 mutante	Grupo 9 4G8 FAP IL-2 mutante
Cmax	ng/ml	47198	97986	60639	148416
Cmax/Dose	(ng/ml)/(ug/g)	0.011	0.011	0.0135	0.016
AUC	ng*h/ml	331747	747449	355030	926683
AUC/Dosis	(ng*h/ml)/(ug/g)	0.074	0.083	0.079	0.103
T1/2z	h	3.6	3.11	4.3	3.12
Dosis original	ug/g	4.5	9	4.5	9
Vía		IV	IV	IV	IV

*Los parámetros TK se calcularon en WinNonlin versión 5.2.1 utilizando análisis no compartimental

Las concentraciones en suero individuales se proporcionan a continuación:

Grupo (dosis)	Día del sangrado	Tiempo (h)	Animal	Conc. en suero (ng/ml)	Conc. media (ng/ml)
Grupo 6 (4.5 µg/g) Fab-IL2-Fab WT de 4G8	1	1	26	64241	47198
			27	30155	
	1	5.5	28	14693	15704
			29	16875	
	1	24	30	318	419
			31	520	
	5	5.5	29	13061	13335
			30	13620	
			31	13325	
Grupo 7 (9 µg/g) Fab-IL2-Fab WT de 4G8	1	1	32	101200	97886
			33	94764	
	1	5.5	34	35768	34082
			35	32359	
	1	24	36	573	580
			37	588	
	5	5.5	32	31778	37473
			33	51143	
			35	53409	
			36	13562	
Grupo 8 (4.5 µg/g) Fab-IL2-Fab mutante de 4G8	1	1	38	73328	60839
			39	47953	
	1	5.5	40	12168	13269
			41	14371	
	1	24	42	494	490
			43	487	
	5	5.5	40	6561	10957
			41	15352	
	5	24	38	606	721
			39	543	
			42	1280	
			43	437	
Grupo 9 (9 µg/g) Fab-IL2-Fab mutante de 4G8	1	1	44	162970	145416
			45	128862	
	1	5.5	46	20475	24800
			47	29125	
	1	24	48	478	493
			49	509	
	5	5.5	46	20501	48031
			47	75557	
	5	24	44	634	703
			45	796	
			48	661	
			49	719	

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

Mortalidad

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

TABLA 17. Mortalidad el día 5.

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

* progresando a necrosis

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

Observaciones clínicas

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

TABLA 18. Observaciones clínicas el día 5.

Grupo	**Tipo**	**Dosis [µg/g]**	**Postura encorvada**	**Hipoactivo**	**Frío al tacto**
1	DPBS	0	0/5	0/5	0/5
2	Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8	4,5	4/5	4/5	5/5
3		9	5/5	5/5	5/5
4	Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8	4,5	0/5	0/5	0/5
5		9	0/5	0/5	0/5
6	Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8	4,5	6/6	2/6	2/6
7		9	6/6	5/6	6/6
8	Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8	4,5	0/6	0/6	0/6
9		9	0/6	0/6	0/6

Peso corporal

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

Hematología

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

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

Patología macroscópica e histopatología

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

Se observaron resultados histopatológicos relacionados con el tratamiento en los grupos que recibieron 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 y que recibieron 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8, en pulmón, médula ósea, hígado, bazo y

timo, con diferencias de incidencia, gradación de la severidad o naturaleza de los cambios, tal como se informa posteriormente.

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

Entre los cambios relacionados con el tratamiento en la médula ósea se incluían una celularidad global de la médula ósea marginal a levemente incrementada en 5/5 ratones y en 2/5 ratones de ambos grupos de 4,5 y de 5/5 y 2/5 ratones en ambos grupos de 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 y Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8, respectivamente. Lo anterior se caracterizaba por una hiperplasia de linfocitos-mielocitos marginal a moderadamente incrementada en dichos grupos, apoyada en

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

Los resultados relacionados con el tratamiento en el hígado consistían de infiltrados leves a moderados principalmente vasocéntricos de células mononucleares y necrosis de células individuales marginal a leve en 5/5 ratones de los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8. Se observó necrosis marginal de células individuales en 2/5 y 4/5 ratones en los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8. El infiltrado mononuclear consistía principalmente de linfocitos (concretamente linfocitos T, confirmado mediante inmunohistoquímica con el

marcador pan-células T CD3 realizado en animales seleccionados) que se observaron con mayor frecuencia en posición vasocéntrica, así como marginados dentro de los vasos centrales y portales. Algunos animales seleccionados para la tinción inmunohistoquímica para F4/80 mostraron un número y tamaño (activado) incrementados de macrófagos/células de Kupffer distribuidos en la totalidad de los sinusoides hepáticos en los grupos de 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 y de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8.

Los resultados relacionados con el tratamiento en el bazo consistían de una hiperplasia/infiltración linfoide marcada e hiperplasia/infiltración de macrófagos leve a moderada en 5/5 ratones en los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 e hiperplasia/infiltración linfoide leve a moderada con hiperplasia/infiltración de macrófagos marginal a leve en 5/5 ratones en los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8. La inmunohistoquímica para los grupos de 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8 y de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8 mostraba patrones diferentes, según el marcador pan-células T CD3, así como el marcador de macrófagos F4/80. Para el grupo de 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8, el patrón de inmunorreactividad de células T y macrófagos permaneció principalmente dentro de las áreas de pulpa roja, debido a que la arquitectura de los folículos primarios había sido alterada por la linfocitolisis y necrosis (descritas posteriormente). Para el grupo de 9 µg/g de Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8, unas tinciones especiales demostraron un patrón similar al del control de vehículo, aunque con expansión de la pulpa blanca de la vaina linfoide periarteriolar (PALS), en una población de células T y un área expandida de mayor tamaño de pulpa roja. También resultaba evidente la positividad de las células T y macrófagos dentro de la pulpa roja, con un patrón similar al del grupo de control de vehículo, aunque expandido. Estos resultados se correlacionan con los resultados macroscópicos del bazo agrandado. Se observó necrosis marginalmente en 3/5 ratones y marginal a levemente en 5/5 ratones en los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8, respectivamente. La necrosis habitualmente se localiza en torno al área de los folículos primarios y los animales seleccionados mostraron un resultado positivo de la tinción MSB para fibrina en los grupos de 4,5 y 9 µg/g de Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8, lo que se correlaciona en parte con el recuento reducido de plaquetas observado en estos animales. Se observó linfocitolisis en los grupos de 4,5 µg/g (mínima a leve) y de 9 µg/g (moderada a marcada) de Fab-IL-2 wt-Fab.

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

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

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

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

Ejemplo 10

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

Se sometieron a ayuno células NK-92 durante 2 horas antes de sembrar 100.000 células/pocillo en una placa con fondo F de 96 pocillos. Se titularon los constructos de IL-2 en células NK-92 sembradas. Tras 24 ó 48 horas, las placas se centrifugaron antes de recoger los sobrenadantes para determinar la cantidad de IFN-γ humana utilizando un ELISA comercial de IFN-γ (BD nº 550612).

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

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

Ejemplo 11

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

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

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

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

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

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

Ejemplo 12

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

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

A continuación, las PBMCs se marcaron con CFSE 40 nM (succinimidil-éster de carboxifluoresceína) durante 15 minutos a 37ºC. Las células se lavaron con 20 ml de medio antes de recuperar las PBMCs marcadas durante 30 minutos a 37ºC. Las células se lavaron, se contaron y se sembraron 100.000 células en placas de fondo U de 96 pocillos. Se midieron cantidades de proleuquina prediluida (IL-2 de tipo salvaje disponible comercialmente) o inmunoconjugados de IL-2 sobre las células sembradas, que se incubaron durante los periodos de tiempo indicados. Tras 4 a 6

días, las células se lavaron, se tiñeron para los marcadores de superficie celular apropiados y se analizaron mediante FACS utilizando un BD FACSantoII. Las células NK se definieron como células $CD3^-/CD56^+$, células T CD4 como $CD3^+/CD8^-$ y células T CD8 como $CD3^+/CD8^+$.

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

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

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

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

Ejemplo 13

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

Se prepararon PBMCs tal como se ha descrito anteriormente. Se sembraron 500.000 PBMCs/pocillo en placas de fondo U de 96 pocillos y se dejaron en reposo durante 45 minutos a 37ºC en medio RPMI que contenía FCS al 10% y glutamax al 1% (Gibco). A continuación, las PBMCs se incubaron con proleuquina, IL-2 de tipo salvaje de producción propia o IL-2 mutante cuádruple a las concentraciones indicadas durante 20 minutos a 37ºC para inducir la fosforilación de STAT5. Posteriormente, las células se fijaron inmediatamente (tampón BD Cytofix) durante 10 minutos a 37ºC y se lavaron una vez, seguido de una etapa de permeabilización (tampón III BD Phosflow Perm) durante 30 minutos a 4ºC. A continuación, las células se lavaron con PBS/BSA al 0,1% y se tiñeron con mezclas de anticuerpos FACS para la detección de las células NK ($CD3^-/CD56^+$), de las células T $CD8^+$ ($CD3^+/CD8^+$), de las células T $CD4^+$ ($CD3^+/CD4^+/CD25^-/CD127^+$) o las células Treg ($CD4^+/CD25^+/CD127^-/FoxP3^+$), así como pSTAT5 durante 30 minutos a RT en la oscuridad. Las células se lavaron dos veces con PBS/BSA al 0,1% y se resuspendieron en PFA al 2% antes del análisis de citometría de flujo (BD FACSantoII).

La figura 38 muestra la fosforilación STAT en células NK (A), células T CD8 (B), células T CD4 (C) y células T reguladoras (D) tras una incubación de 30 minutos con proleuquina, IL-2 de tipo salvaje producida en el propio laboratorio ("pool" 2) e

IL-2 mutante cuádruple (lote 1). Las tres preparaciones de IL-2 eran igualmente potentes en la inducción de la fosforilación STAT en células NK, así como en células T CD8. En las células T CD4 e incluso más en células T reguladoras, la IL-2 mutante cuádruple presentaba una actividad menor que las preparaciones de IL-2 de tipo salvaje.

Ejemplo 14

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

Las condiciones experimentales fueron las indicadas anteriormente (ver el Ejemplo 13).

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

Ejemplo 15

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

Se sometieron a ensayo dosis de inmunoconjugados Fab-IL2-Fab con diana en FAP, que comprenden IL-2 de tipo salvaje (wt) o mutante cuádruple (qm), en ratones Black 6 inmunocompetentes libres de tumor.

Los ratones Black 6 hembra (Charles River, Alemania), de 8 a 9 semanas de edad al inicio del experimento, se mantuvieron bajo condiciones libres de patógenos específicos con ciclos diarios de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad de acuerdo a directrices acordadas (GV-Solas, Felasa, TierschG). El protocolo del estudio

experimental fue revisado y autorizado por el gobierno local (P 2008016). Tras su llegada, los animales se mantuvieron durante una semana para que se aclimatasen al nuevo entorno y para su observación. Se llevó a cabo un seguimiento continuo periódico de su estado de salud.

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

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

TABLA 19.

Compuesto	**Dosis**	**Tampón de formulación**	**Concentración (mg/mL)**
Fab-IL2 wt-Fab de 4G8	60, 80, 100 µg	Fosfato potásico 25 mM, NaCl 125 mM, Glicina 100 mM, pH 6,7	3,32 (=solución madre)
Fab-IL2 qm-Fab de 4G8	100, 200, 400, 600, 1000 µg	Fosfato potásico 25 mM, NaCl 125 mM, Glicina 100 mM, pH 6,7	4,25 (=solución madre)

Ejemplo 16

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

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

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

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

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

La figura 41 muestra la farmacocinética de dichos inmunoconjugados de IL-2. Los constructos IgG-IL2 tanto con diana en FAP (A) como sin dianas (B) presentaban una vida media en suero más prolongada (aproximadamente 30 horas) que los constructos IgG-IL2 wt correspondientes (aproximadamente 15 horas).

TABLA 20.

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

Ejemplo 17

Farmacocinética de una única dosis de Fab-IL2 wt-Fab y Fab-IL2 qm-Fab sin dianas

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

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

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

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

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

TABLA 21.

Compuesto	**Dosis**	**Tampón de formulación**	**Concentración (mg/mL)**
Fab-IL2 wt-Fab DP47GS	65 nM/kg	Glicina 100 mM, NaCl 125 mM, KH_2PO_4 25 nM pH 6,7	3,84 (=solución madre)
Fab-IL2 qm-Fab DP47GS	65 nM/kg	Glicina 100 mM, NaCl 125 mM, KH_2PO_4 25 nM pH 6,7	2,42 (=solución madre)

Ejemplo 18

Muerte celular inducida por activación de PBMCs activadas por IL-2

Se preactivaron durante la noche con PHA-M en una concentración de 1 µg/ml en RPMI1640 con FCS al 10% y glutamina al 1%, PBMCs recién aisladas procedentes de donantes sanos. Tras la preactivación, las PBMCs se recolectaron, se marcaron con CFSE 40 nM en PBS y se sembaron en placas de 96 pocillos a razón de 100.000 células/pocillo. Las PBMCs preactivadas se estimularon con diferentes concentraciones de inmunoconjugados de IL-2 (IgG-IL-2 wt de 4B9, IgG-IL-2 qm de 4B9, Fab-IL-2 wt de 4B9 y Fab-IL-2 qm-Fab de 4B9). Tras seis días de tratamiento de IL-2, las PBMCs fueron tratadas con 0,5 µg/ml de anticuerpo anti-Fas activador durante la noche. La proliferación de las células T CD4 ($CD3^+CD8^-$) y CD8 ($CD3^+CD8^+$) se analizó tras seis dias mediante dilución CFSE. El porcentaje de células T vivas tras el tratamiento anti-Fas se determinó mediante acotamiento en células vivas $CD3^+$ anexina-V-negativas.

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

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

* * *

Aunque la invención anteriormente expuesta ha sido descrito en cierto detalle a título ilustrativo y ejemplar para los fines de claridad de comprensión, las

descripciones y ejemplos no deben interpretarse como limitativos del alcance de la invención. Las exposiciones de toda la literatura de patentes y científica citadas en la presente memoria se incorporan expresamente en su totalidad como referencia.

REIVINDICACIONES

1. Un Inmunoconjugado que comprende un polipéptido IL-2 mutante y una fracción de unión a antígeno,

donde dicho polipéptido IL-2 mutante es una molécula de la IL-2 humana que comprende las sustituciones de aminoácidos F42A, Y45A y L72G (numeración relativa a la IL-2 humana SEQ ID NO:1); y

donde dicha fracción de unión a antígeno es una subclase IgG_1 de moléculas de inmunoglobulinas específicas para FAP, que comprende (i) la secuencia de región variable de cadena pesada SEQ ID No. 41 y la secuencia de región variable de cadena ligera SEQ ID No. 39; (ii) la secuencia de región variable de cadena pesada SEQ ID No. 51 y la secuencia de región variable de cadena ligera SEQ ID No. 49; (iii) la secuencia de región variable de cadena pesada SEQ ID No 111 y la secuencia de región variable de cadena ligera SEC ID No 109; (iv) la secuencia de región variable de cadena pesada SEQ ID No. 143 y la secuencia de región variable de cadena ligera SEQ ID No. 141; o (v) la secuencia de región variable de cadena pesada SEQ ID No. 151 y la secuencia de región variable de cadena ligera SEC ID No. 149.

2. El inmunoconjugado de la reivindicación 1, donde dicho polipéptido IL-2 mutante además comprende la sustitución de aminoácidos T3A y/o la sustitución de aminoácidos C125A.

3. El inmunoconjugado de la reivindicación 1 o 2, donde dicho polipéptido IL-2 mutante comprende la secuencia de SEQ ID NO: 19.

4. El inmunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde dicho polipéptido IL-2 mutante está unido en su aminoácido amino-terminal al aminoácido carboxi-terminal de una de las cadenas pesadas de inmunoglobulina.

5. El inmunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el inmunoconjugado comprende no más de un polipéptido IL-2 mutante.

6. El inmunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, donde la subclase IgG_1 de molécula de inmunoglobulina comprende en el dominio Fc una modificación que induce la heterodimerización de dos cadenas pesadas de inmunoglobulina no idénticas.

7. El inmunoconjugado de la reivindicación 6, donde la modificación es una modificación de botón-en-ojal, que comprende una modificación del botón en una de las cadenas pesadas de inmunoglobulina y una modificación de ojal en la otra cadena pesada de inmunoglobulina.

8. El inmunoconjugado de la reivindicación 7, donde la modificación de botón comprende la sustitución de aminoácido T366W en una de las dos cadenas pesadas de inmunoglobulina y la modificación de ojal comprende las sustituciones de aminoácidos T366S, L368A y Y407V en la otra de las dos cadenas pesadas de inmunoglobulina.

9. El inmunoconjugado de la reivindicación 8, donde la cadena pesada de la inmunoglobulina comprende la modificación de botón que además comprende la modificación de aminoácido S354C y la cadena pesada de inmunoglobulina que comprende la modificación de ojal que además comprende la sustitución de aminoácido Y349C.

10. El inmunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde la molécula IgG_1 comprende en su dominio Fc una o más mutaciones de aminoácido que reduce la afinidad de unión del inmunoconjugado para el receptor de FcγRIIIa, FcγRI o FcγRIIa.

11. El inmunoconjugado de la reivindicación 10, donde la molécula IgG_1 comprende las mutaciones de aminoácido L234A, L235A y P329G.

12. El inmunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, que comprende (i) la secuencia de polipéptidos SEQ ID NO: 297, la secuencia de polipéptidos SEQ ID NO: 299 y la secuencia de polipéptidos SEQ ID NO: 233; (ii) la secuencia de polipéptidos SEQ ID NO: 301, la secuencia de polipéptidos SEQ ID NO: 303 y la secuencia de polipéptidos SEQ ID NO: 231; o (iii) la secuencia de polipéptidos SEQ ID NO: 315, la secuencia de polipéptidos SEQ ID NO: 317 y la secuencia de polipéptidos SEQ ID NO: 233.

13. El inmunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde dicha molécula IgG_1 específica para FAP comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 111 y una región variable de cadena liviana de SEQ ID NO: 109.

14. El inmunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, que comprende una secuencia de polipéptido SEQ ID NO: 301, una secuencia de polipéptido SEQ ID NO: 303 y una secuencia de polipéptido SEQ ID NO: 231.

15. El inmunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, que esencialmente consiste de un polipéptido IL-2 mutante y una molécula IgG_1, unida por una secuencia conectora.

16. Un polinúcleotido aislado codificado por el inmunoconjugado de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, donde dicho polinucleótido comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 295, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 296, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42, SEQ ID NO: 50, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 110, SEQ ID NO: 112, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 144, SEQ ID NO: 150, SEQ ID NO: 152, SEQ ID NO: 232, SEQ ID NO: 234, SEQ ID NO: 298, SEQ ID NO: 300, SEQ ID NO: 302, SEQ ID NO: 304, SEQ ID NO: 316 y SEQ ID NO: 318.

17. Una Célula huésped aislada que comprende el polinucleótido según la reivindicación 16.

18. Un método para producir un inmunoconjugado que comprende un polipéptido IL-2 mutante y una fracción de unión a antígeno, que comprende cultivar la célula huésped según la reivindicación 17 bajo condiciones adecuadas para la expresión del inmunoconjugado.

19. Un inmunoconjugado producido mediante el método según la reivindicación 18.

20. Una composición farmacéutica que comprende el inmunoconjugado según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 ó 19 y un portador farmacéuticamente aceptable.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN
SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCIÓN PCT

(21) No. de solicitud:	(51) Int Cl: C07K 14/55
(22) Fecha de solicitud: 25-06-13	(71) Solicitante(s): **ROCHE GLYCART AG**
(30) Prioridad (31) ***No. Prioridad*** (32) ***Fecha*** (33) ***País*** 11153964.9 10-02-11 EP 11164237.7 29-04-11 EP	(72) Inventor(es): AST, Oliver; BRUENKER, Peter; FREIMOSER-GRUNDSCHOBER, Anne; HERTER, Sylvia; HOFER, Thomas U.; HOSSE, Ralf; KLEIN, Christian; MOESSNER, Ekkehard; NICOLINI, Valeria G. y UMANA, Pablo.
	(74) Apoderado: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 10-09-13 (86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud: *07-02-12* No. de solicitud: ***PCT/EP2012/051991***	(87) Publicación internacional Fecha: ***16-08-12*** No. publicación: ***WO 2012/107417 A1***
(54) Titulo: **"POLIPÉPTIDOS INTERLEUQUINA- 2 MUTANTES"**	

Resumen - Reivindicación(es):

Resumen.-

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

Sector: Farmacéutico. La invención se refiere a polipéptidos IL-2 mutantes que muestran propiedades mejoradas para la utilización como agentes inmunoterapéuticos.

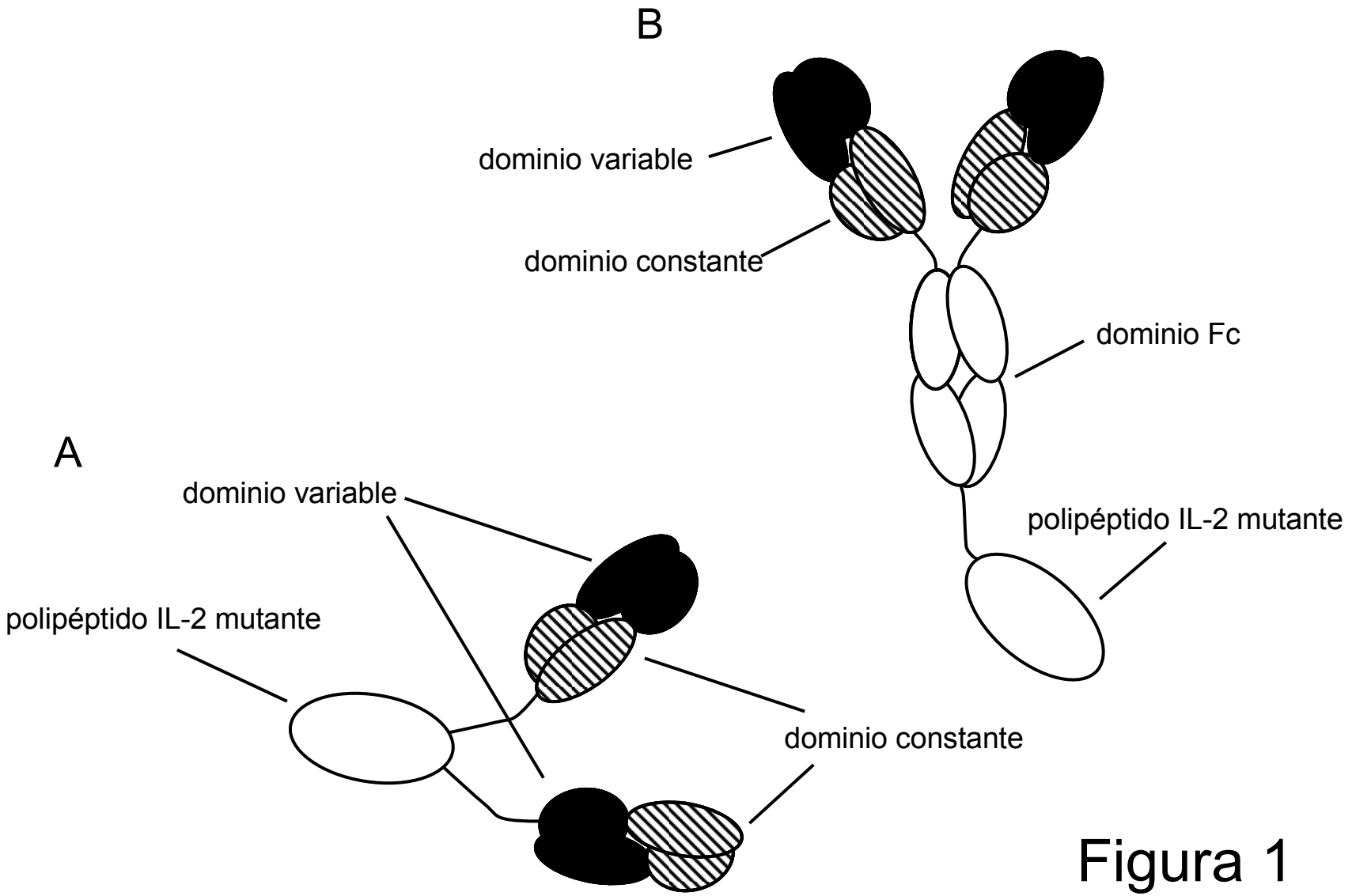

B
dominio variable
dominio constante
dominio Fc
polipéptido IL-2 mutante
A
dominio variable
polipéptido IL-2 mutante
dominio constante

Figura 1

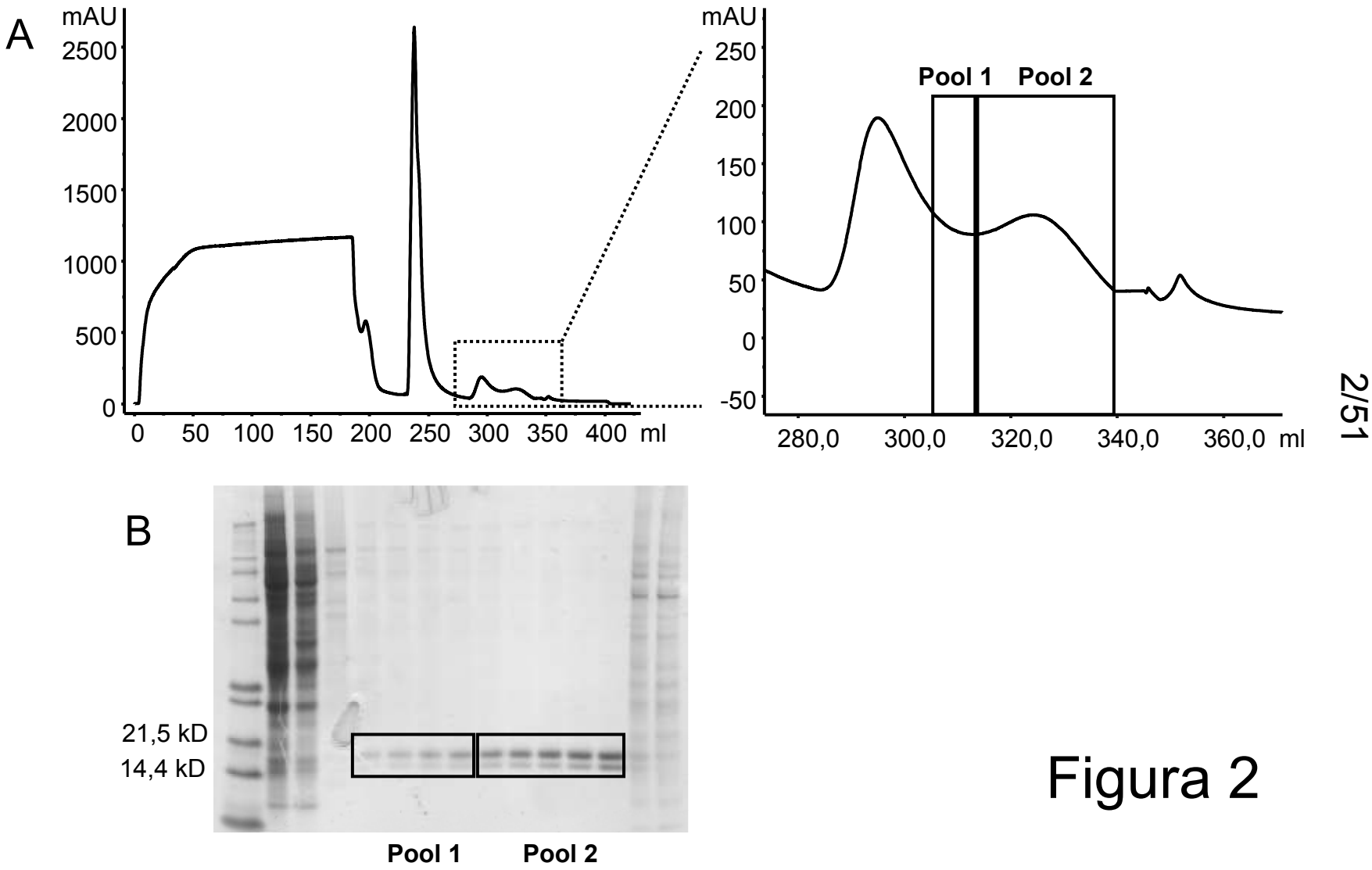
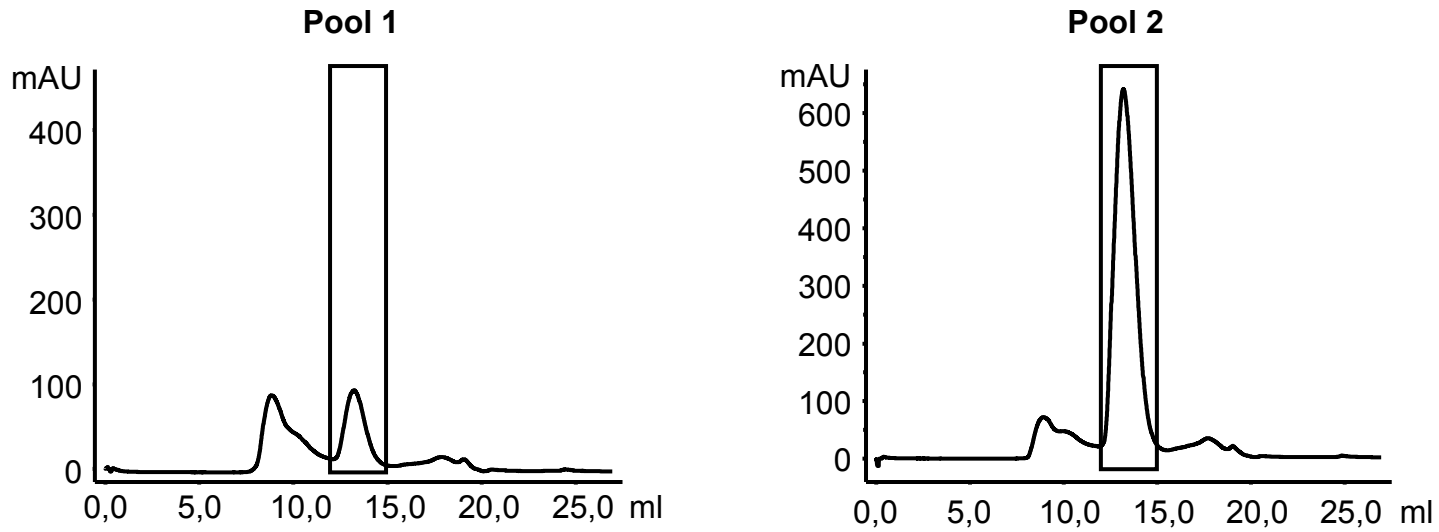

A
mAU
2500
2000
1500
1000
500
0
0 50 100 150 200 250 300 350 400 ml
mAU
250
200
150
100
50
0
-50
Pool 1 Pool 2
280,0 300,0 320,0 340,0 360,0 ml
B
21,5 kD
14,4 kD
Pool 1 Pool 2

Figura 2

A


Pool 1
mAU
400
300
200
100
0
0,0
5,0
10,0
15,0
20,0
25,0
ml
Pool 2
mAU
600
500
400
300
200
100
0
0,0
5,0
10,0
15,0
20,0
25,0
ml

B

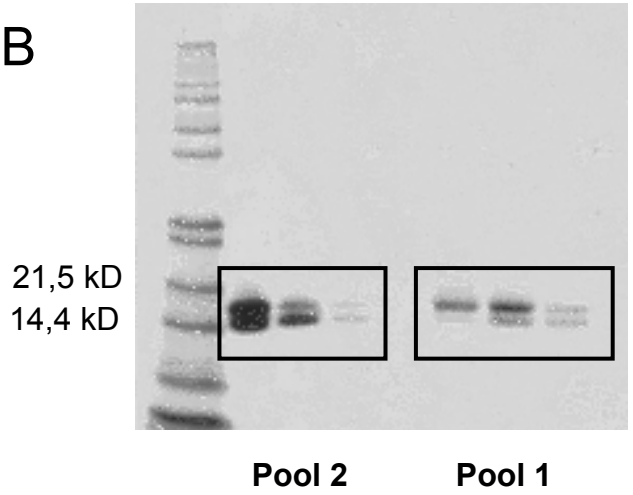

21,5 kD
14,4 kD
Pool 2
Pool 1

Figura 3

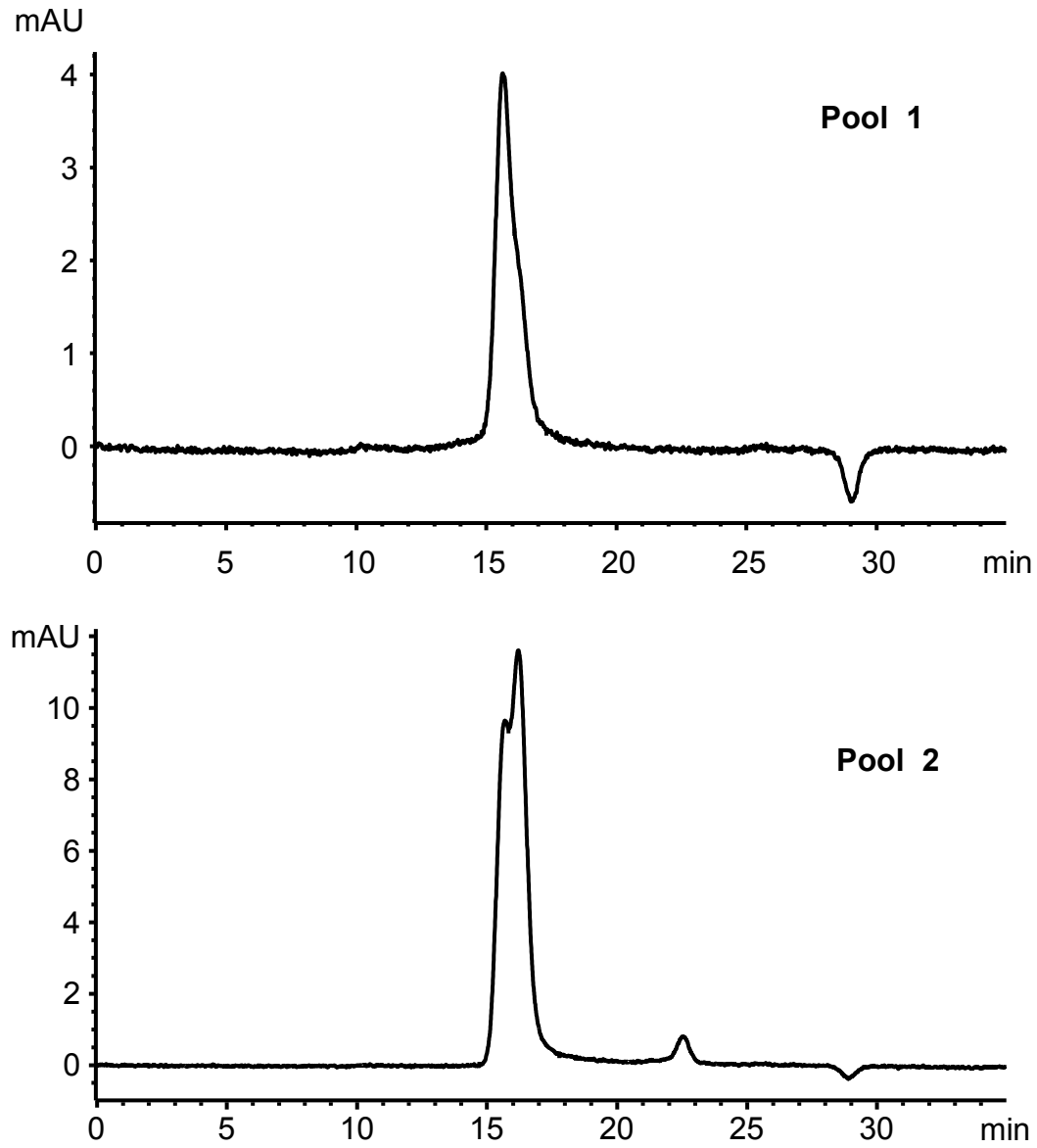

mAU
4
3
2
1
0
Pool 1
0
5
10
15
20
25
30
min
mAU
10
8
6
4
2
0
Pool 2
0
5
10
15
20
25
30
min

Figura 4

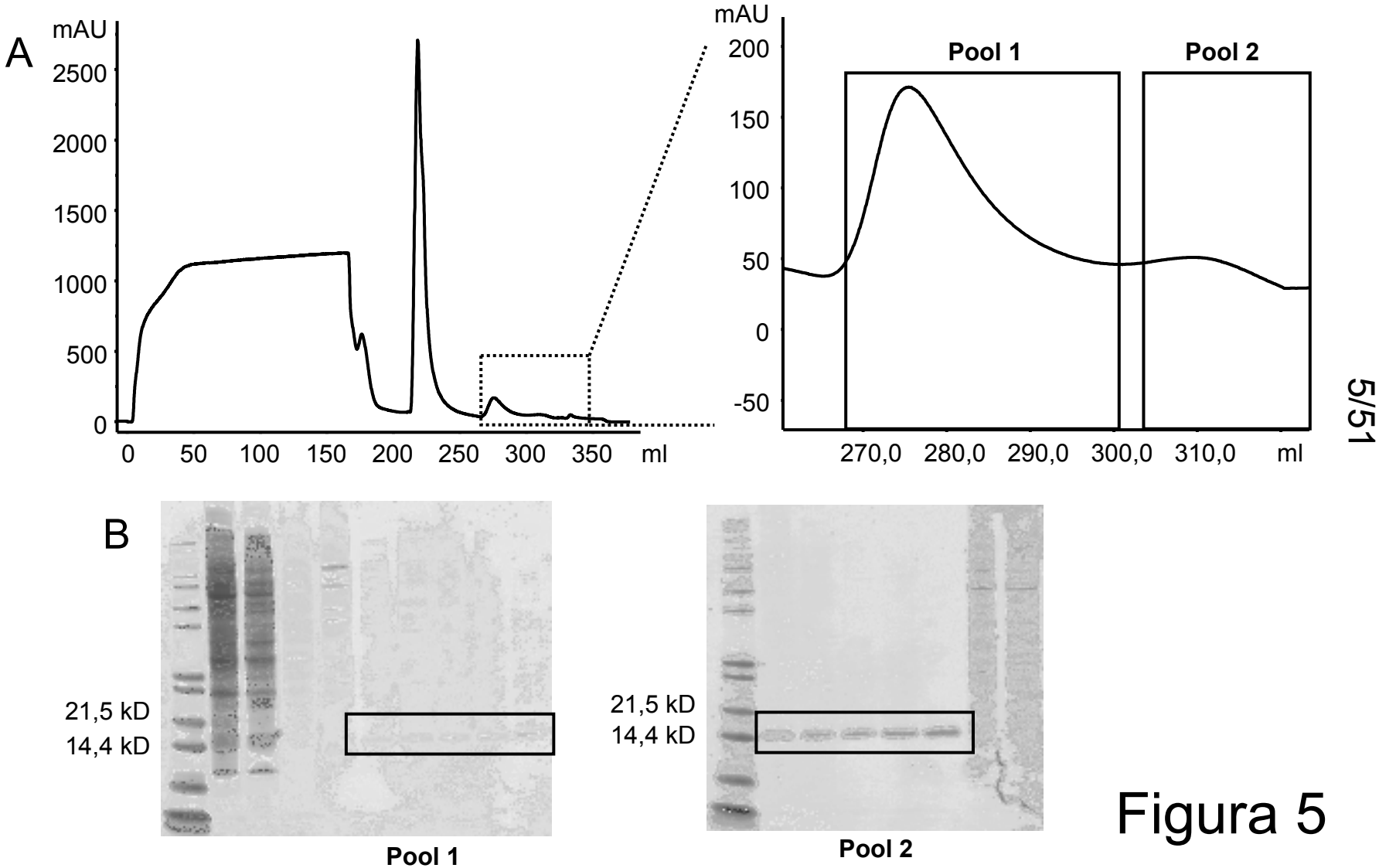

A
mAU
2500
2000
1500
1000
500
0
0 50 100 150 200 250 300 350 ml
mAU
200
150
100
50
0
-50
Pool 1
Pool 2
270,0 280,0 290,0 300,0 310,0 ml
B
21,5 kD
14,4 kD
Pool 1
21,5 kD
14,4 kD
Pool 2

Figura 5

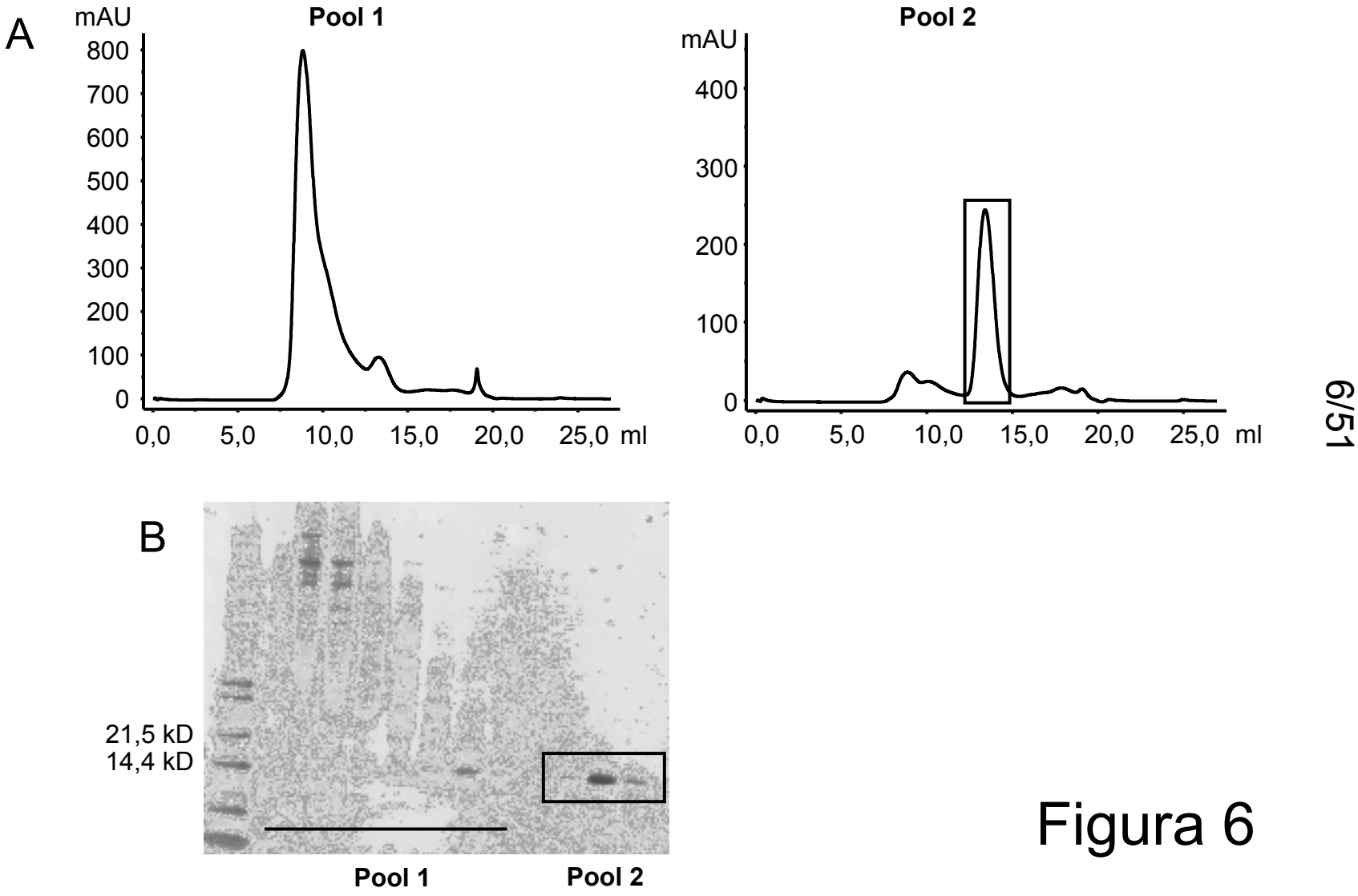

A
mAU
Pool 1
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0,0
5,0
10,0
15,0
20,0
25,0
ml
Pool 2
mAU
400
300
200
100
0
0,0
5,0
10,0
15,0
20,0
25,0
ml
B
21,5 kD
14,4 kD
Pool 1
Pool 2

Figura 6

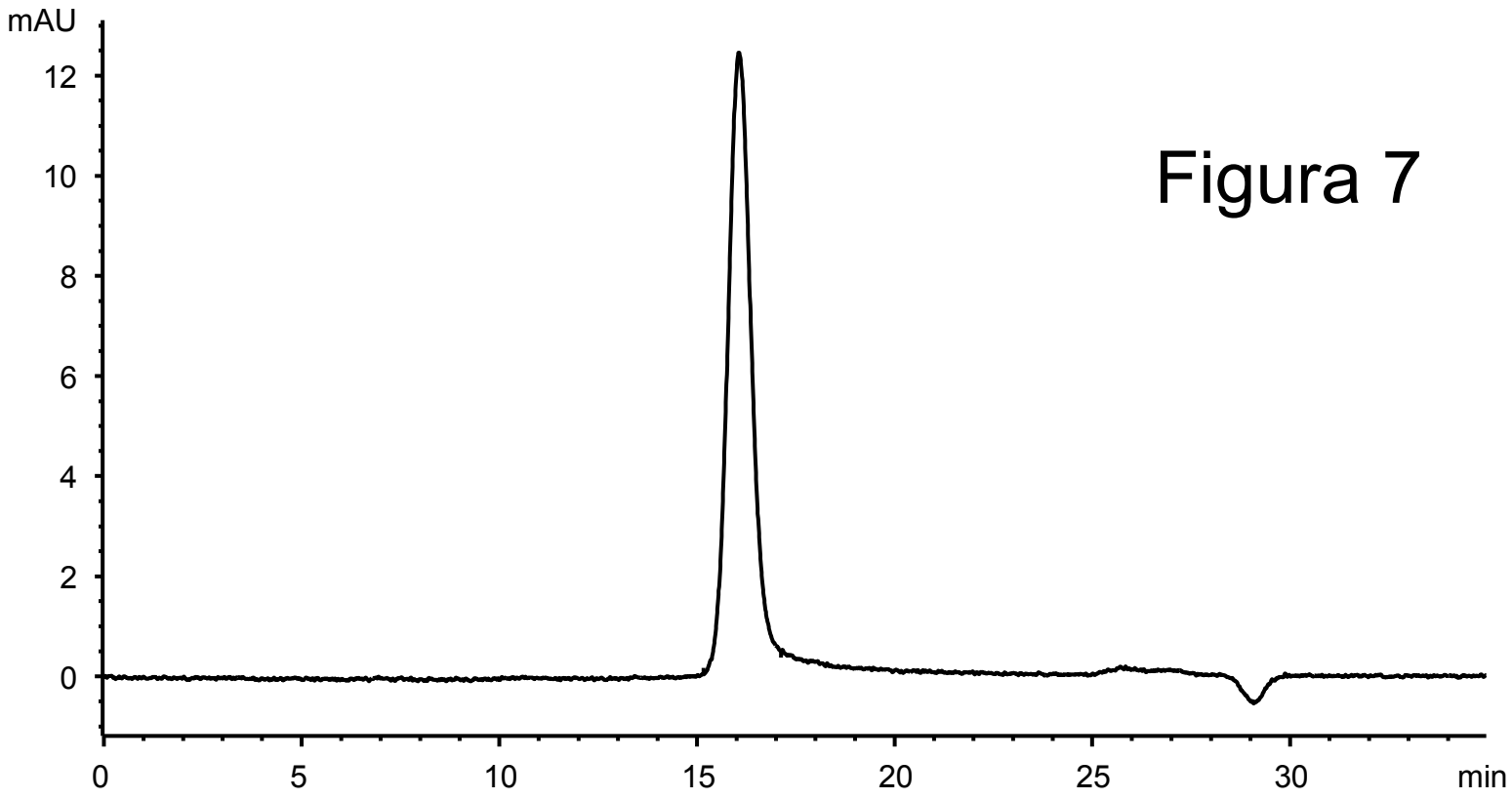


Figura 7

A

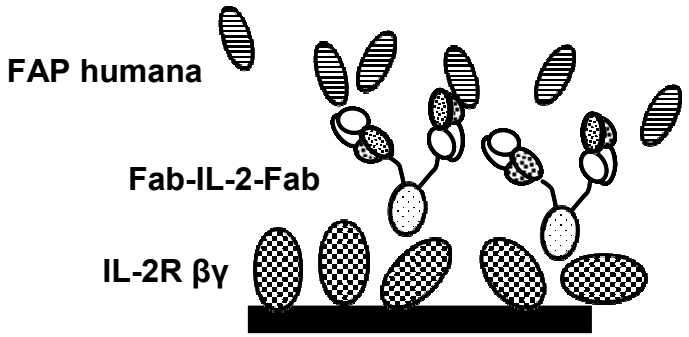

FAP humana
Fab-IL-2-Fab
IL-2R βγ

Figura 8

B

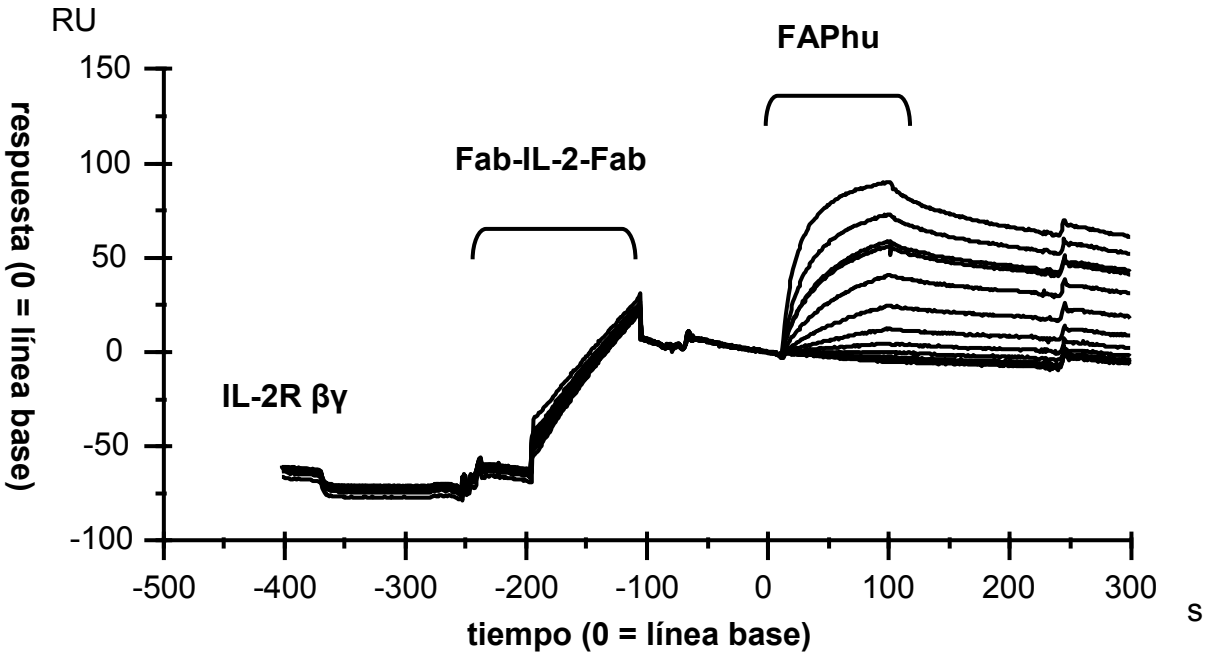

RU
FAPhu
Fab-IL-2-Fab
IL-2R βγ
respuesta (0 = línea base)
150
100
50
0
-50
-100
-500
-400
-300
-200
-100
0
100
200
300
s
tiempo (0 = línea base)

Figura 9

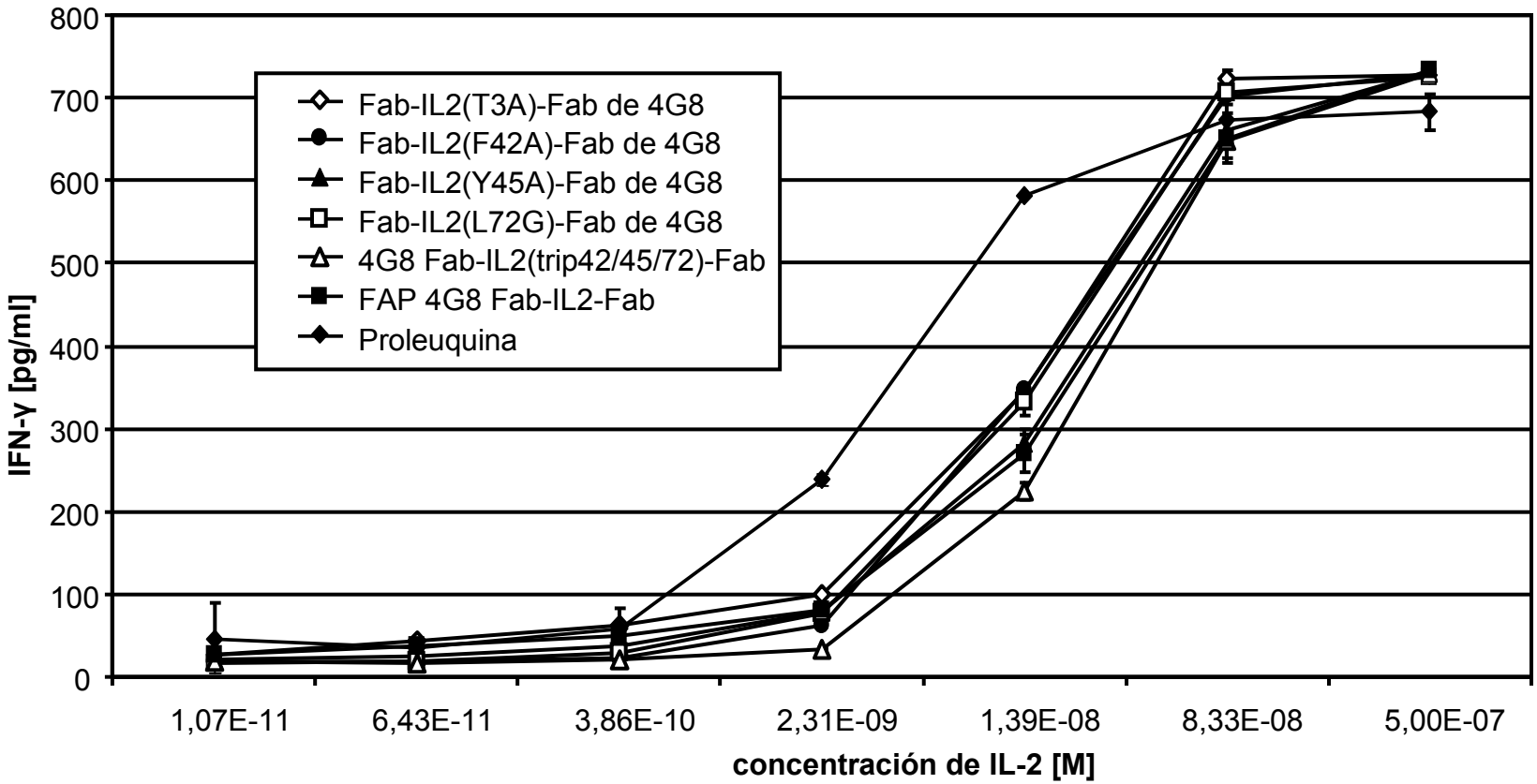

800
700
600
500
400
300
200
100
0
IFN-γ [pg/ml]
Fab-IL2(T3A)-Fab de 4G8
Fab-IL2(F42A)-Fab de 4G8
Fab-IL2(Y45A)-Fab de 4G8
Fab-IL2(L72G)-Fab de 4G8
4G8 Fab-IL2(trip42/45/72)-Fab
FAP 4G8 Fab-IL2-Fab
Proleuquina
1,07E-11
6,43E-11
3,86E-10
2,31E-09
1,39E-08
8,33E-08
5,00E-07
concentración de IL-2 [M]

Figura 10

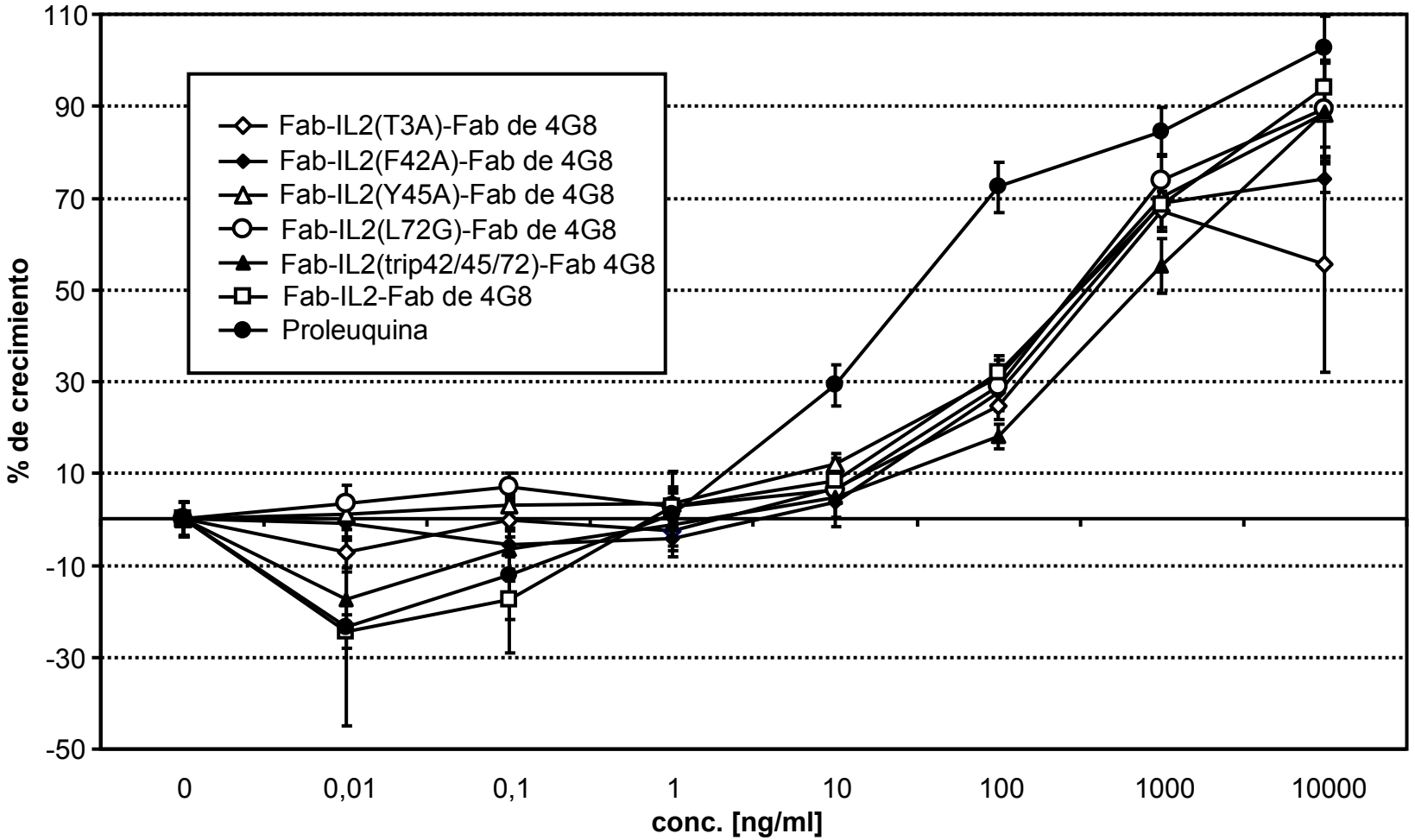
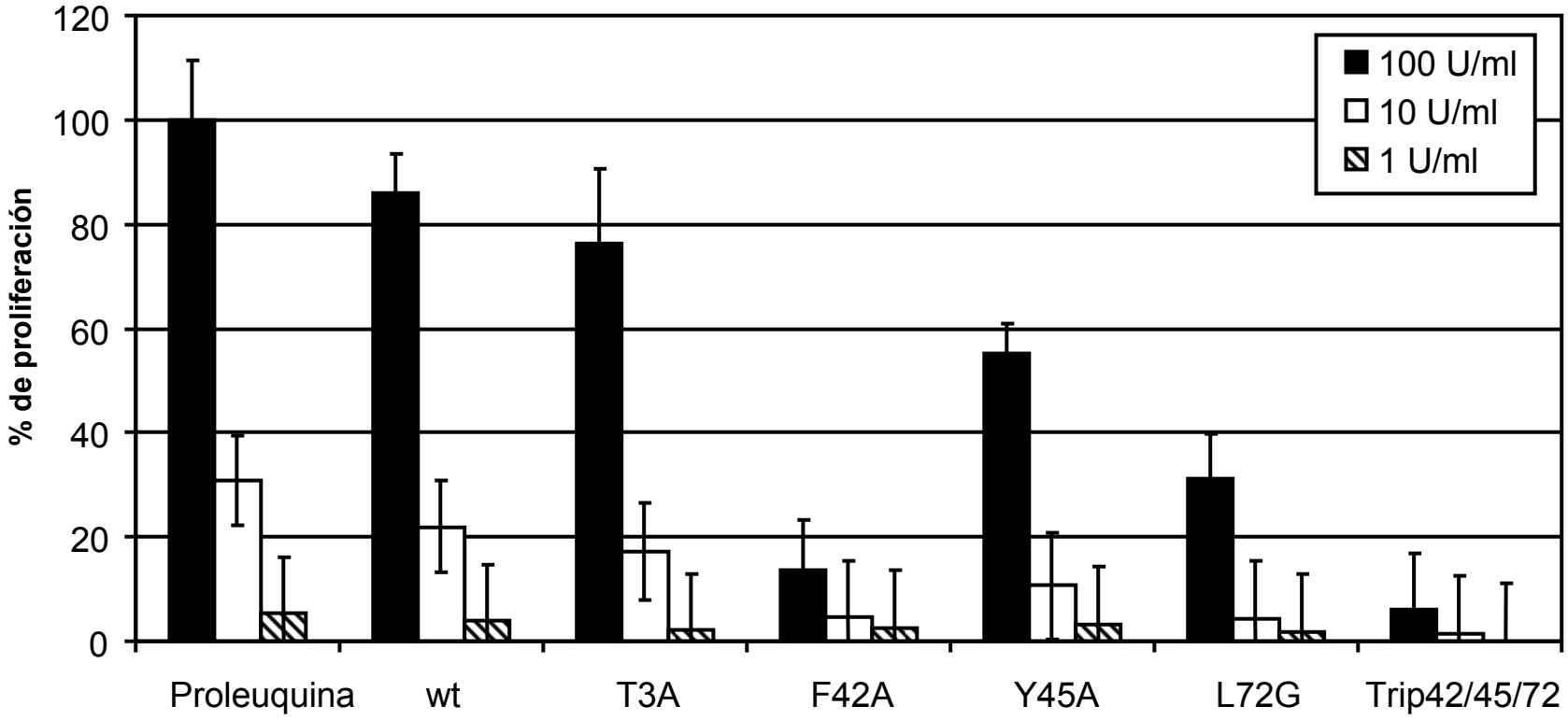

110
90
70
50
30
10
-10
-30
-50
% de crecimiento
Fab-IL2(T3A)-Fab de 4G8
Fab-IL2(F42A)-Fab de 4G8
Fab-IL2(Y45A)-Fab de 4G8
Fab-IL2(L72G)-Fab de 4G8
Fab-IL2(trip42/45/72)-Fab 4G8
Fab-IL2-Fab de 4G8
Proleuquina
0
0,01
0,1
1
10
100
1000
10000
conc. [ng/ml]

Figura 11


120
100
80
60
40
20
0
% de proliferación
100 U/ml
10 U/ml
1 U/ml
Proleuquina
wt
T3A
F42A
Y45A
L72G
Trip42/45/72

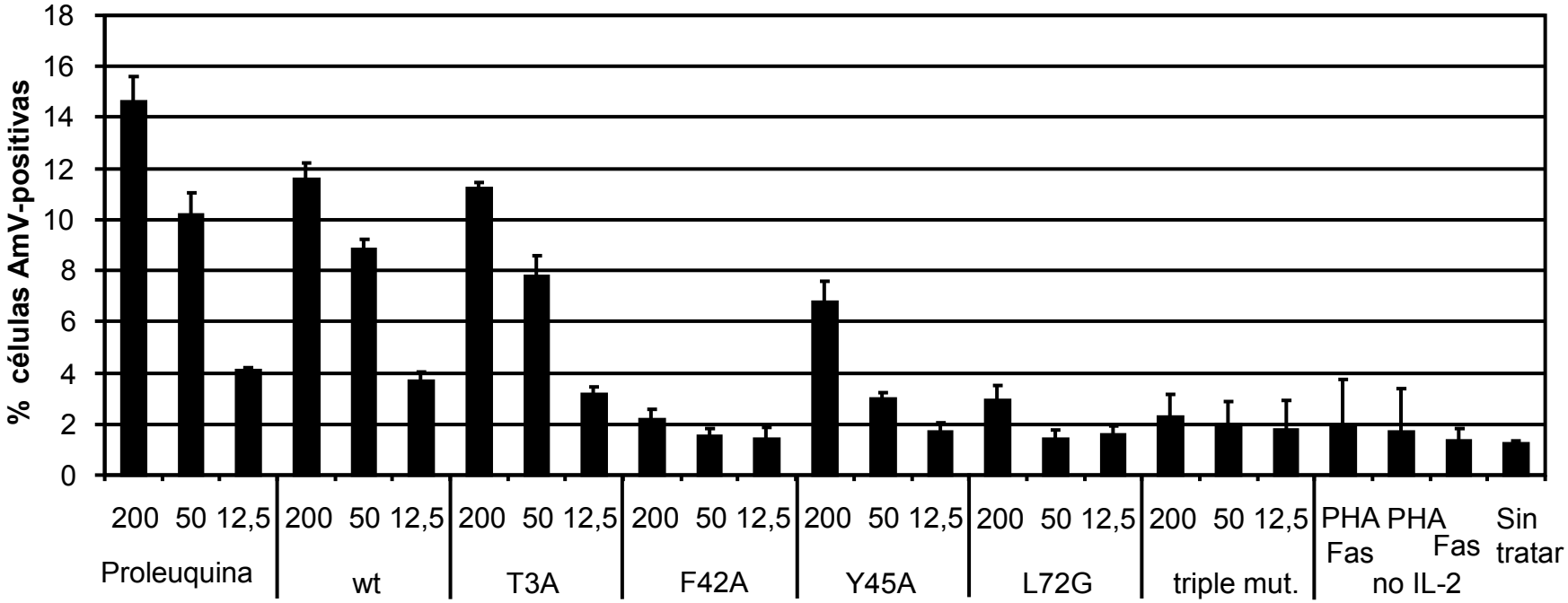
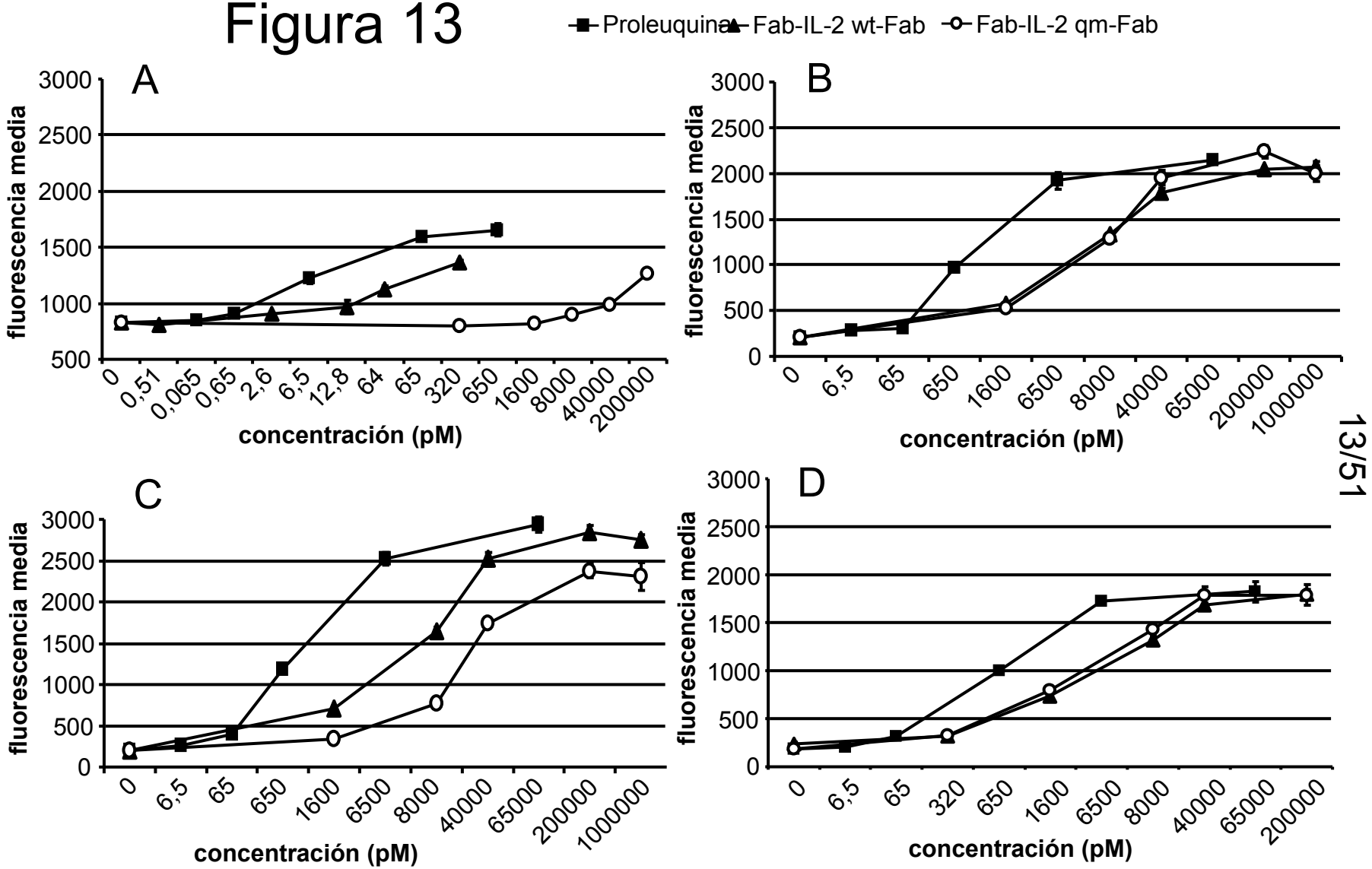
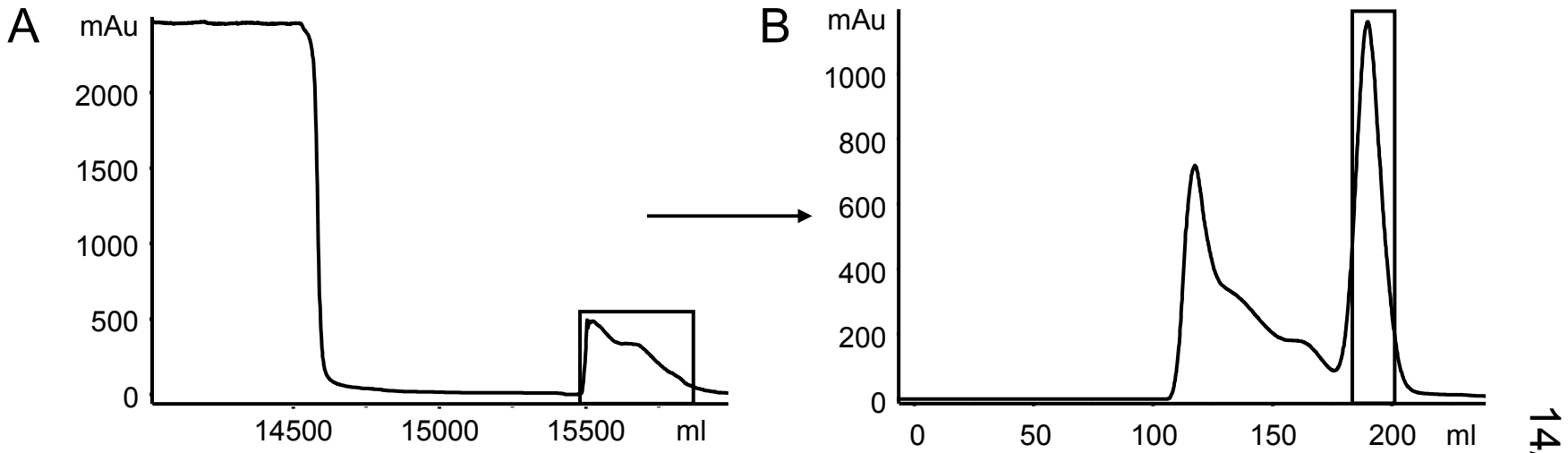

% células AmV-positivas
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
200 50 12,5 200 50 12,5 200 50 12,5 200 50 12,5 200 50 12,5 200 50 12,5 200 50 12,5 PHA Fas PHA Fas Sin tratar
Proleuquina
wt
T3A
F42A
Y45A
L72G
triple mut.
no IL-2

Figura 12

Figura 13


Proleuquina
Fab-IL-2 wt-Fab
Fab-IL-2 qm-Fab
A
B
C
D
fluorescencia media
concentración (pM)
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0
0,51
0,065
0,65
2,6
6,5
12,8
64
65
320
650
1600
8000
40000
200000
6,5
65
650
1600
6500
8000
40000
65000
200000
1000000


A
mAu
2000
1500
1000
500
0
14500
15000
15500
ml
B
mAu
1000
800
600
400
200
0
0
50
100
150
200
ml

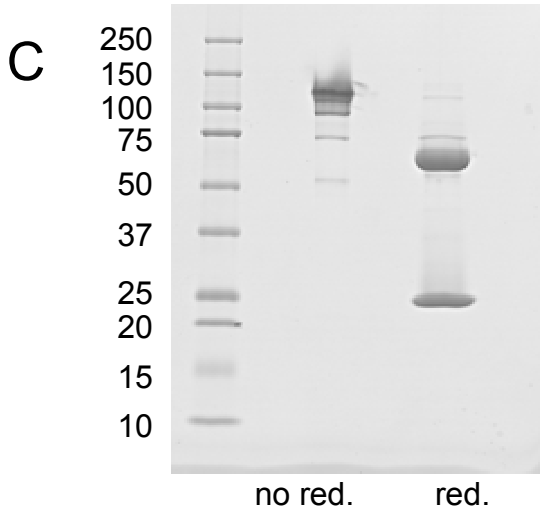
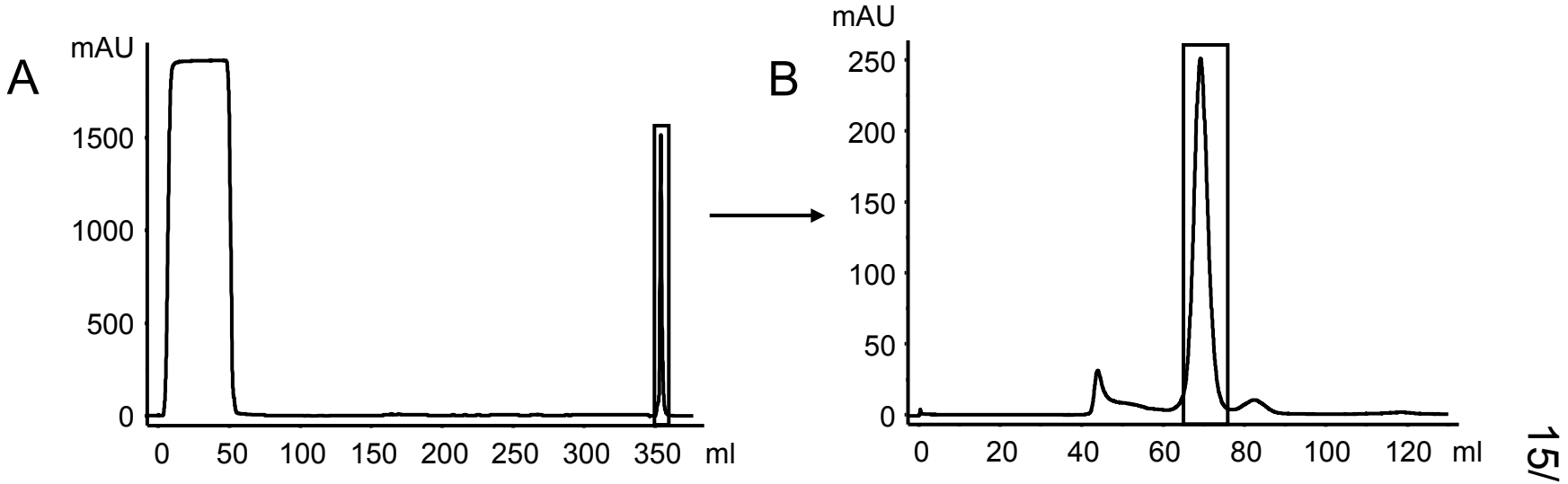

C
250
150
100
75
50
37
25
20
15
10
no red.
red.

Figura 14


A
mAU
1500
1000
500
0
0 50 100 150 200 250 300 350 ml
B
mAU
250
200
150
100
50
0
0 20 40 60 80 100 120 ml

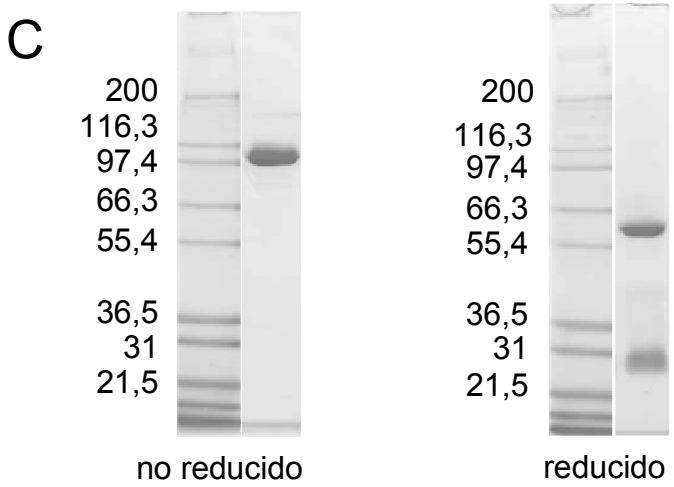

C
200
116,3
97,4
66,3
55,4
36,5
31
21,5
no reducido
200
116,3
97,4
66,3
55,4
36,5
31
21,5
reducido

Figura 15

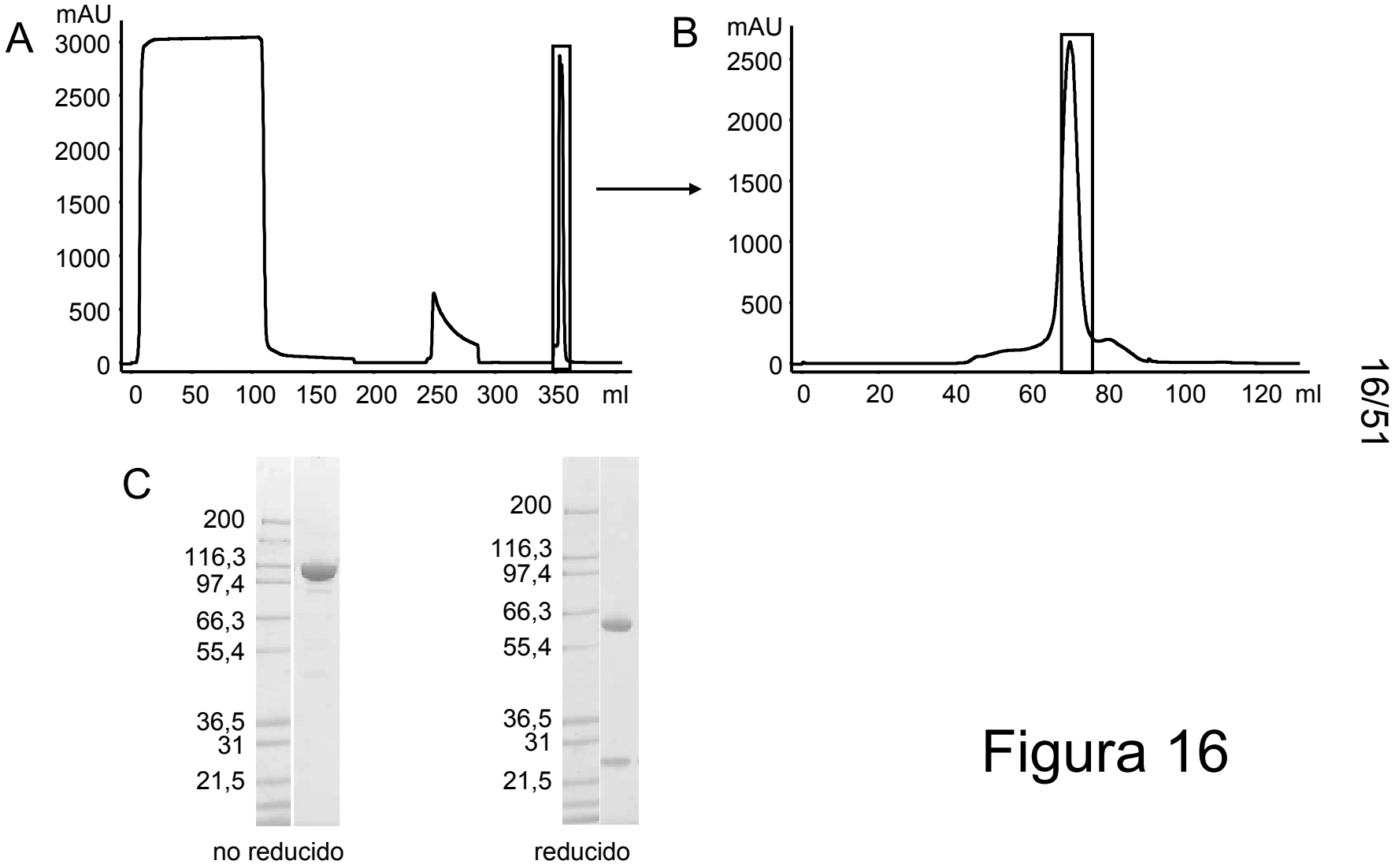

A
mAU
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0 50 100 150 200 250 300 350 ml
B
mAU
2500
2000
1500
1000
500
0
0 20 40 60 80 100 120 ml
C
200
116,3
97,4
66,3
55,4
36,5
31
21,5
no reducido
200
116,3
97,4
66,3
55,4
36,5
31
21,5
reducido

Figura 16

Figura 17

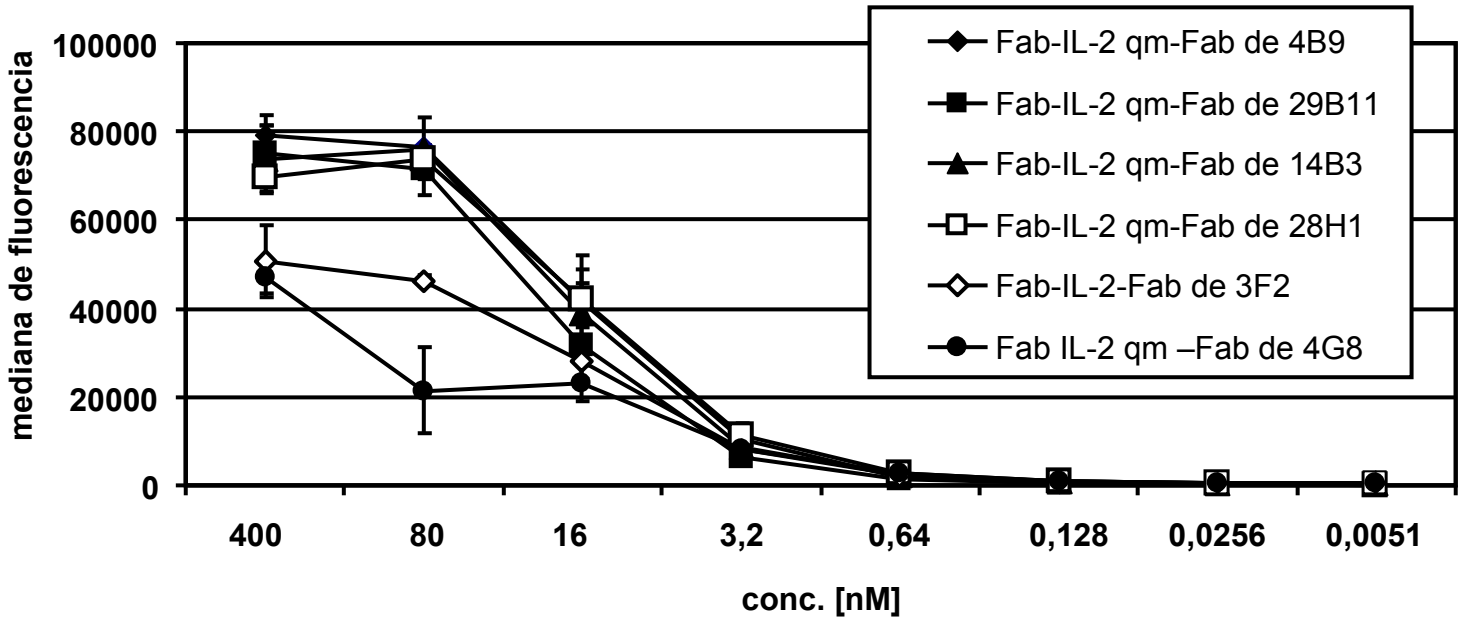
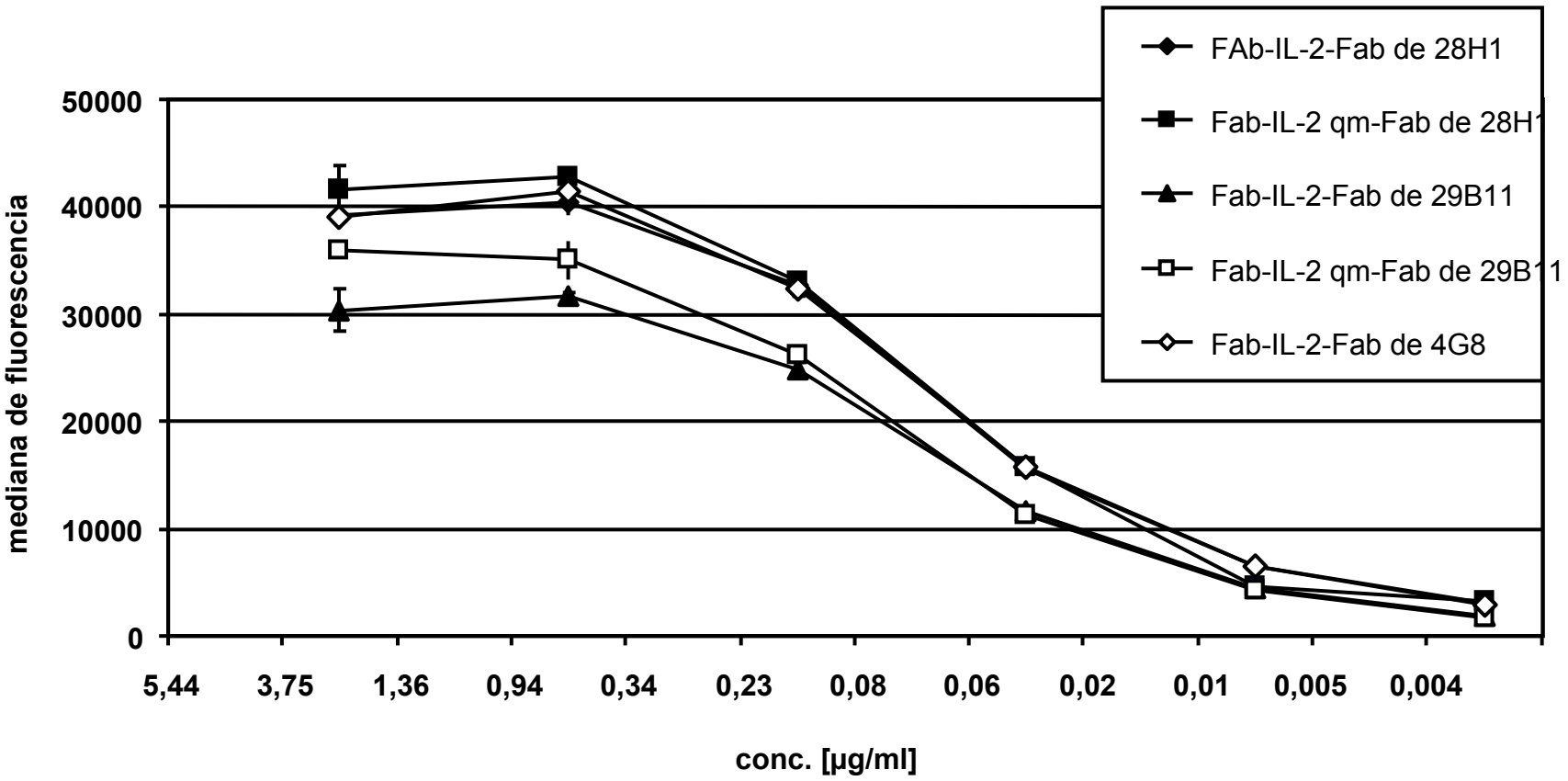

mediana de fluorescencia
100000
80000
60000
40000
20000
0
400
80
16
3,2
0,64
0,128
0,0256
0,0051
conc. [nM]
Fab-IL-2 qm-Fab de 4B9
Fab-IL-2 qm-Fab de 29B11
Fab-IL-2 qm-Fab de 14B3
Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1
Fab-IL-2-Fab de 3F2
Fab IL-2 qm –Fab de 4G8

Figura 18


FAb-IL-2-Fab de 28H1
Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1
Fab-IL-2-Fab de 29B11
Fab-IL-2 qm-Fab de 29B11
Fab-IL-2-Fab de 4G8
mediana de fluorescencia
50000
40000
30000
20000
10000
0
5,44
3,75
1,36
0,94
0,34
0,23
0,08
0,06
0,02
0,01
0,005
0,004
conc. [µg/ml]

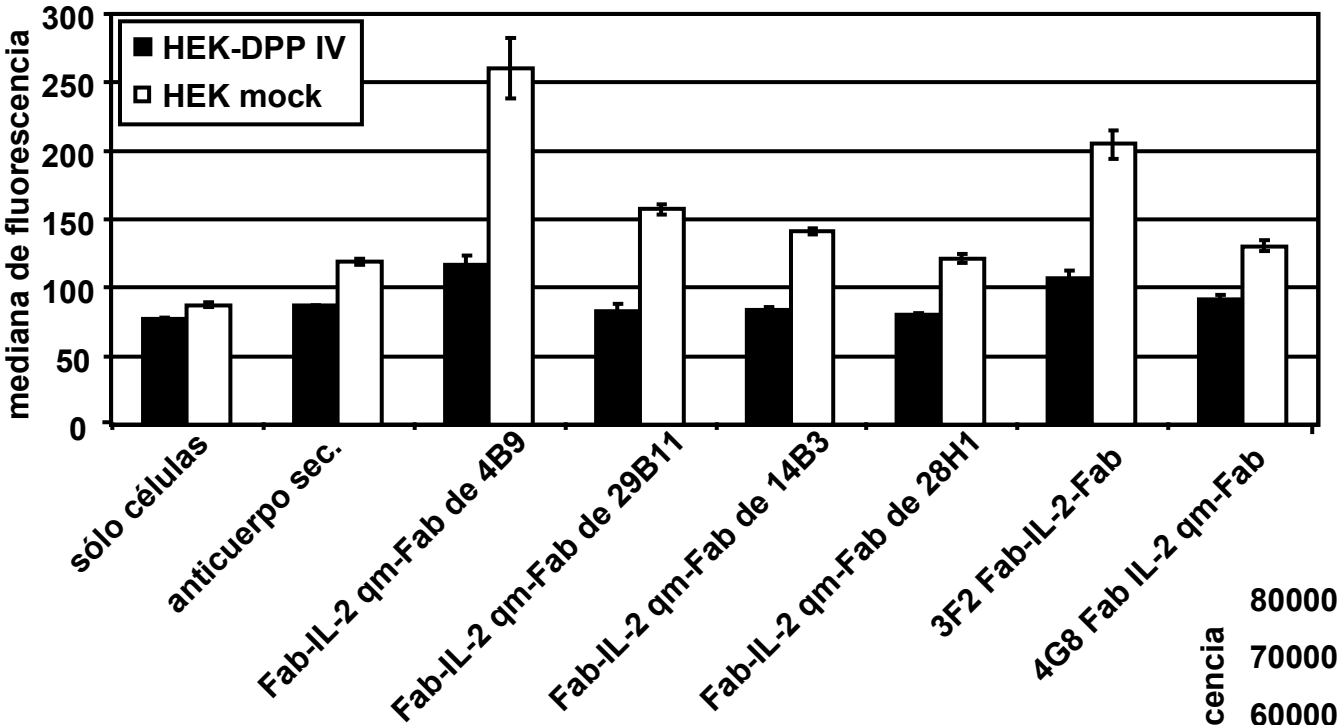

mediana de fluorescencia
300
250
200
150
100
50
0
HEK-DPP IV
HEK mock
sólo células
anticuerpo sec.
Fab-IL-2 qm-Fab de 4B9
Fab-IL-2 qm-Fab de 29B11
Fab-IL-2 qm-Fab de 14B3
Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1
3F2 Fab-IL-2-Fab
4G8 Fab IL-2 qm-Fab

Figura 19

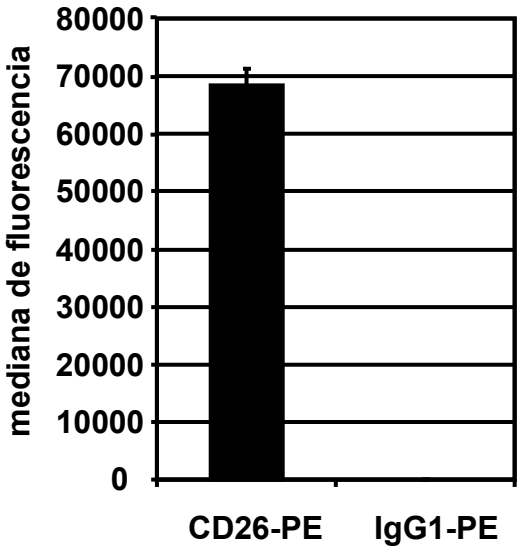
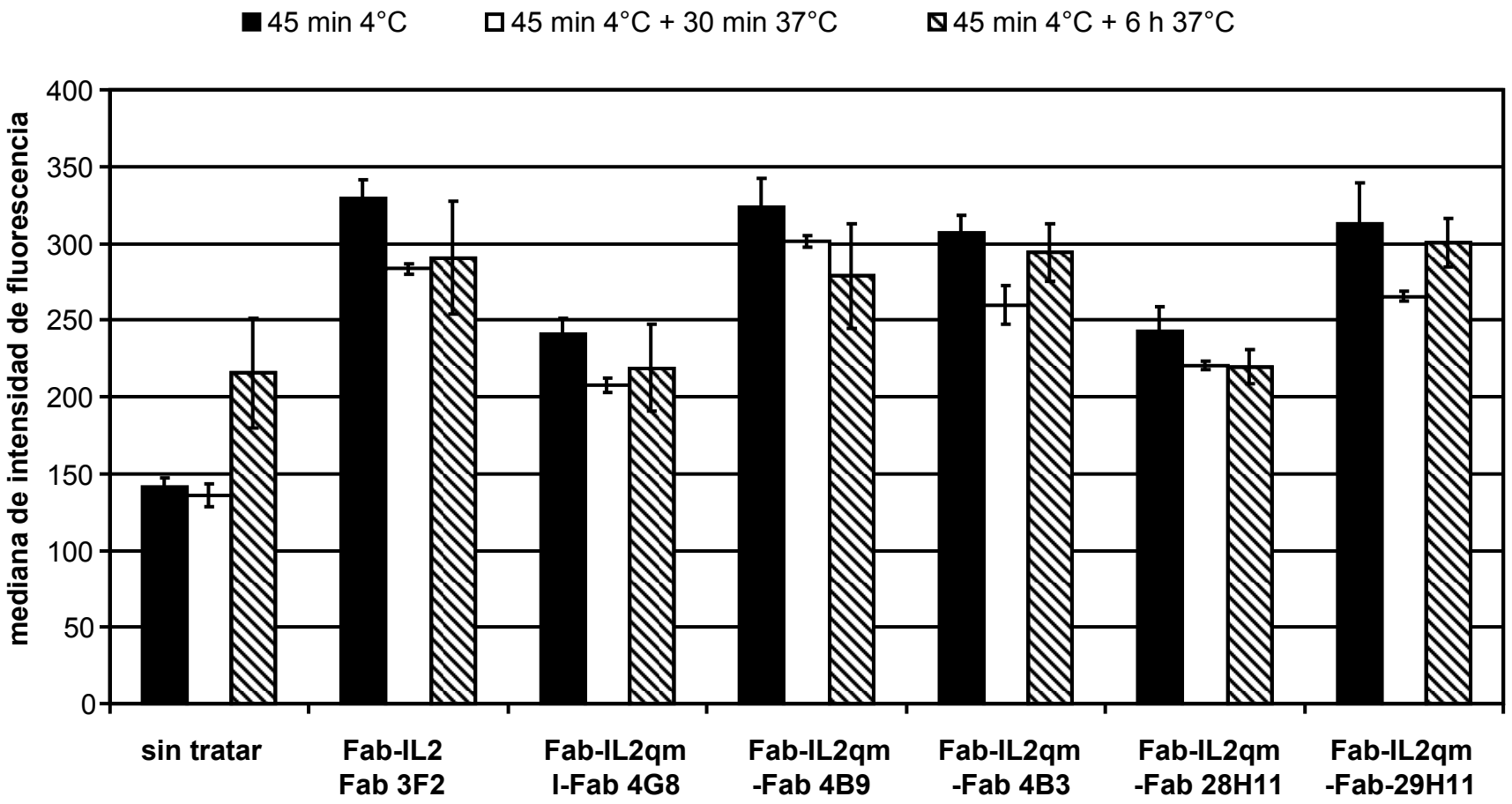

mediana de fluorescencia
80000
70000
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
CD26-PE
IgG1-PE

Figura 20


45 min 4°C
45 min 4°C + 30 min 37°C
45 min 4°C + 6 h 37°C
mediana de intensidad de fluorescencia
400
350
300
250
200
150
100
50
0
sin tratar
Fab-IL2 Fab 3F2
Fab-IL2qm l-Fab 4G8
Fab-IL2qm -Fab 4B9
Fab-IL2qm -Fab 4B3
Fab-IL2qm -Fab 28H11
Fab-IL2qm -Fab-29H11

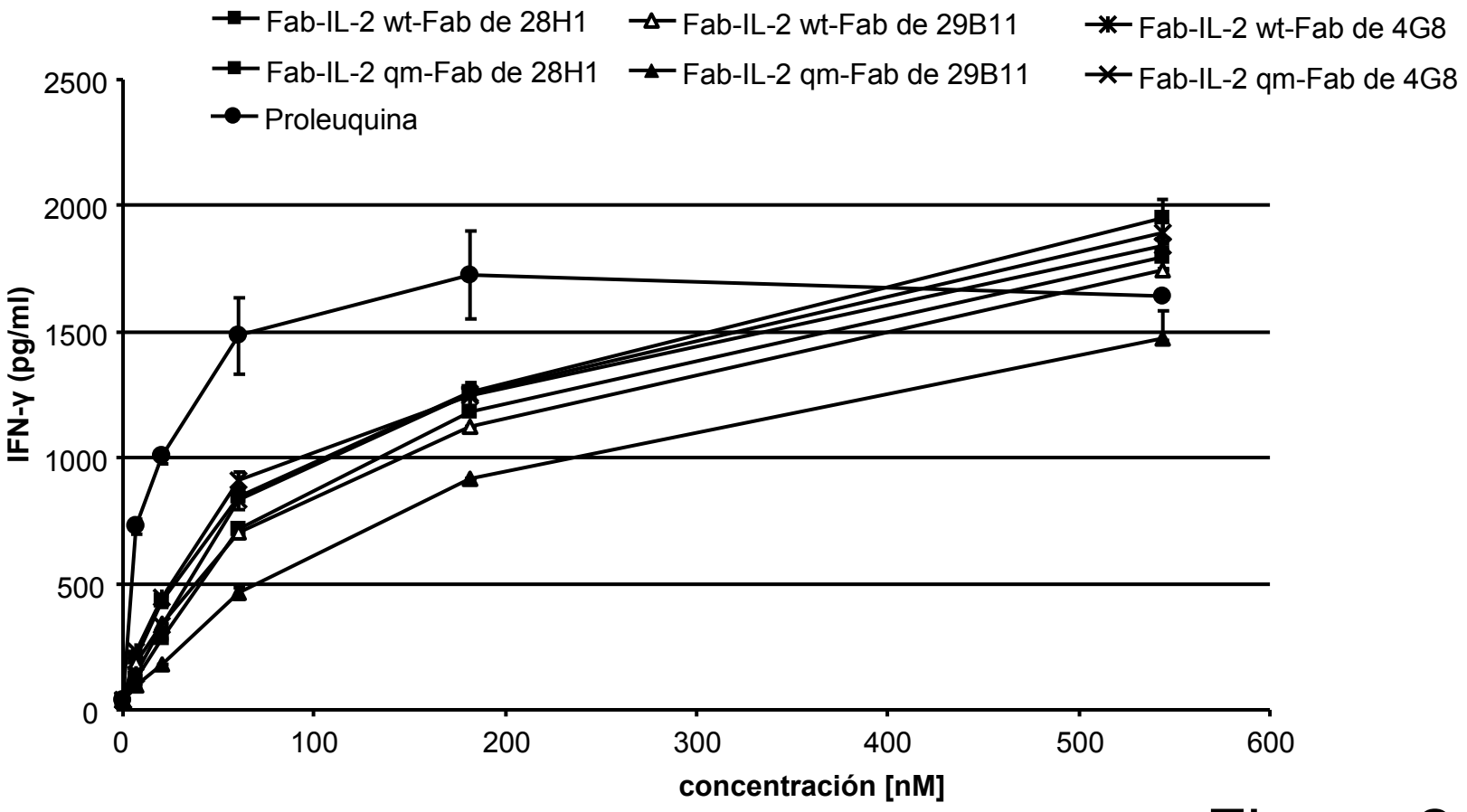

Fab-IL-2 wt-Fab de 28H1
Fab-IL-2 wt-Fab de 29B11
Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8
Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1
Fab-IL-2 qm-Fab de 29B11
Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8
Proleuquina
IFN-γ (pg/ml)
2500
2000
1500
1000
500
0
0
100
200
300
400
500
600
concentración [nM]

Figura 21

Figura 22

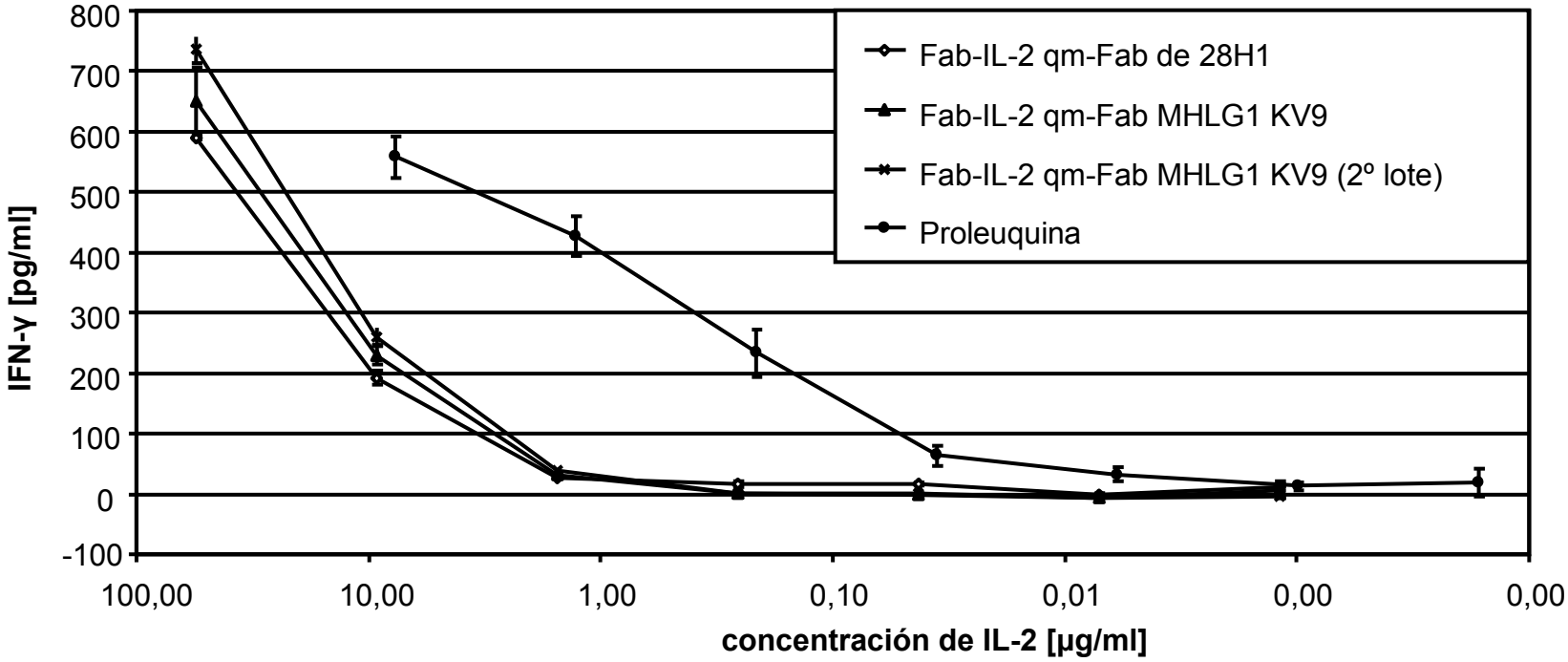

800
700
600
500
400
300
200
100
0
-100
IFN-γ [pg/ml]
100,00
10,00
1,00
0,10
0,01
0,00
0,00
concentración de IL-2 [µg/ml]
Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1
Fab-IL-2 qm-Fab MHLG1 KV9
Fab-IL-2 qm-Fab MHLG1 KV9 (2º lote)
Proleuquina

Figura 23

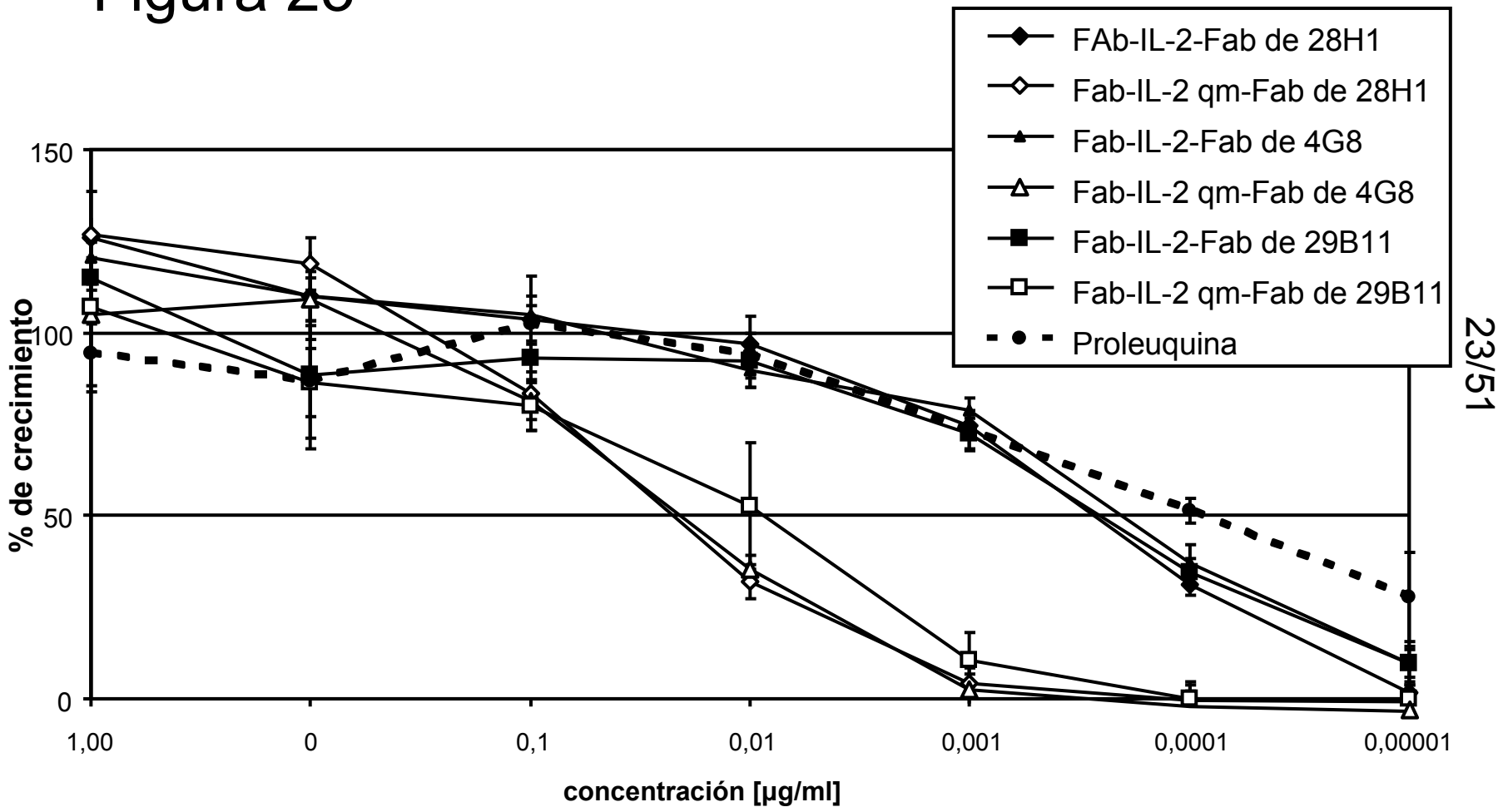

FAb-IL-2-Fab de 28H1
Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1
Fab-IL-2-Fab de 4G8
Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8
Fab-IL-2-Fab de 29B11
Fab-IL-2 qm-Fab de 29B11
Proleuquina
150
100
50
0
% de crecimiento
1,00
0
0,1
0,01
0,001
0,0001
0,00001
concentración [µg/ml]

Figura 24

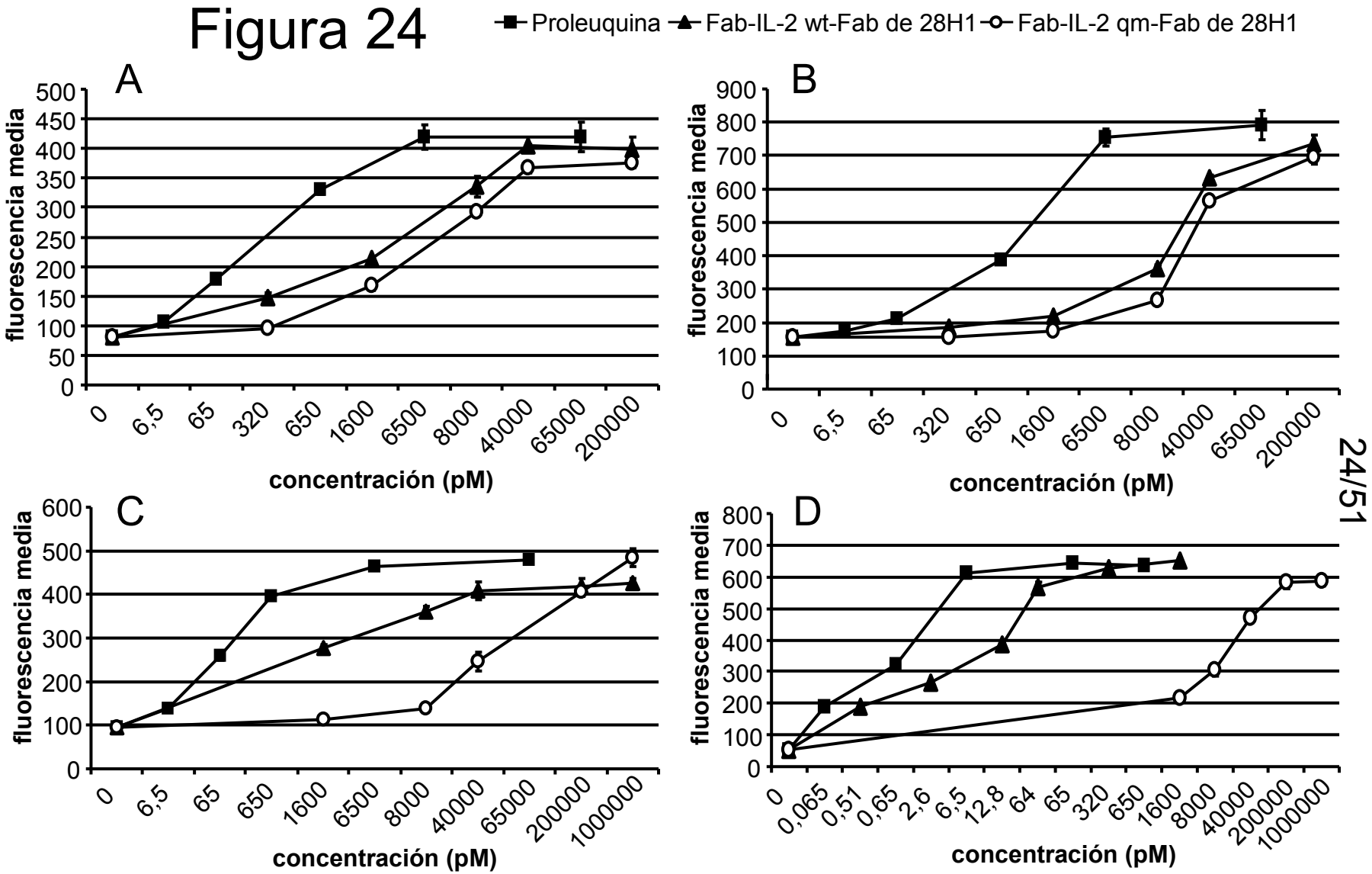

Proleuquina
Fab-IL-2 wt-Fab de 28H1
Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1
A
fluorescencia media
0
50
100
150
200
250
300
350
400
450
500
0
6,5
65
320
650
1600
6500
8000
40000
65000
200000
concentración (pM)
B
fluorescencia media
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
0
6,5
65
320
650
1600
6500
8000
40000
65000
200000
concentración (pM)
C
fluorescencia media
0
100
200
300
400
500
600
0
6,5
65
650
1600
6500
8000
40000
65000
200000
1000000
concentración (pM)
D
fluorescencia media
0
100
200
300
400
500
600
700
800
0
0,065
0,51
0,65
2,6
6,5
12,8
64
65
320
650
1600
8000
40000
200000
1000000
concentración (pM)

Figura 25

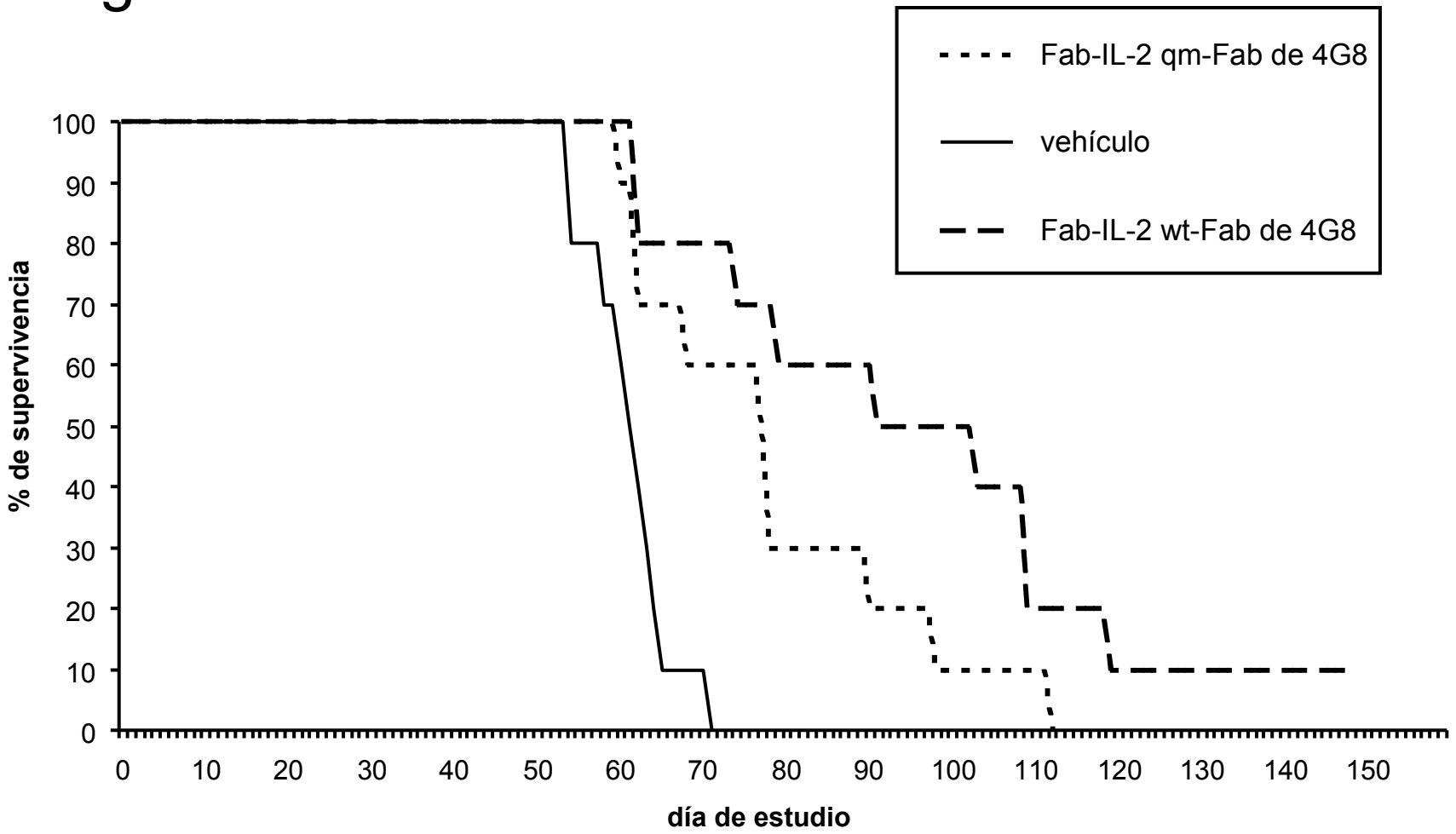

Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8
vehículo
Fab-IL-2 wt-Fab de 4G8
% de supervivencia
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
110
120
130
140
150
día de estudio

Figura 26

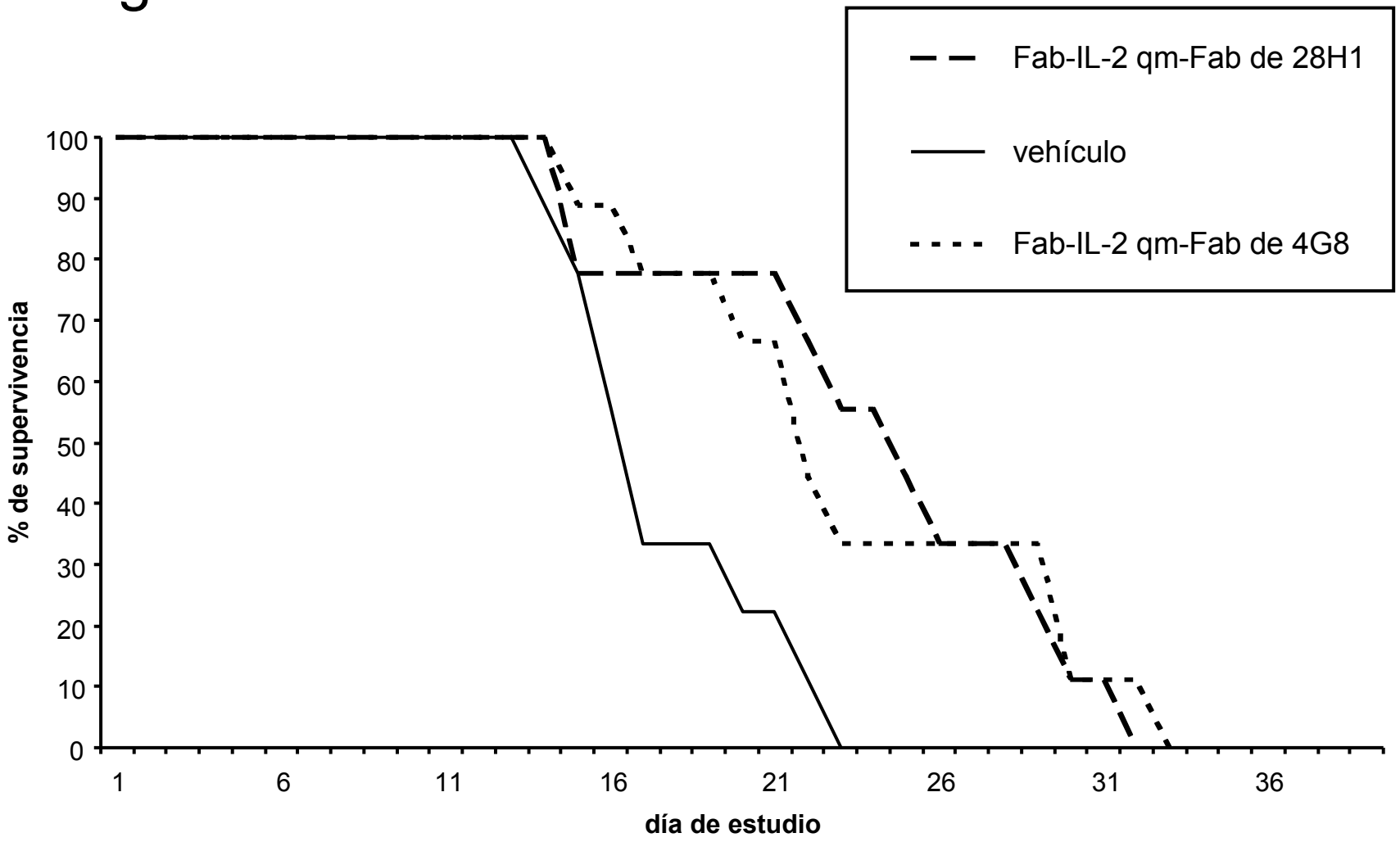
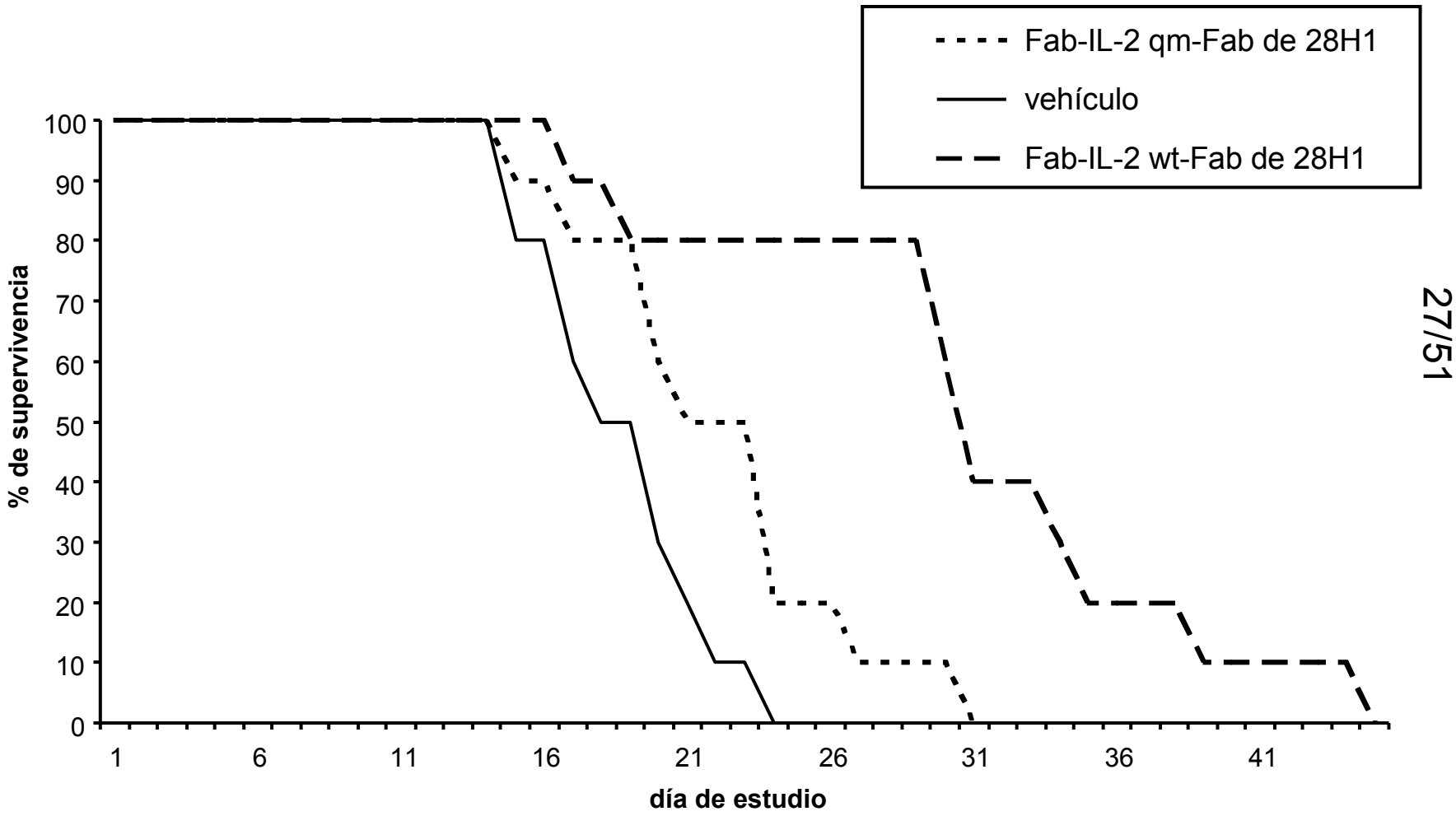
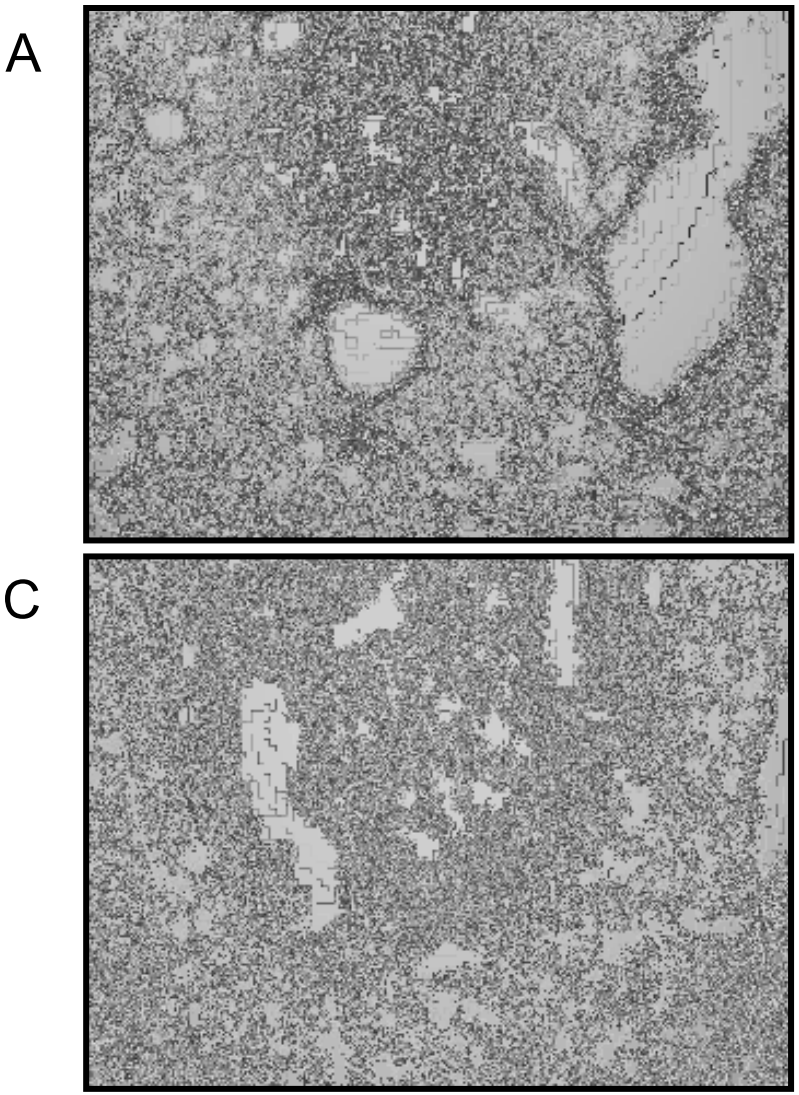

Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1
vehículo
Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8
% de supervivencia
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
1
6
11
16
21
26
31
36
día de estudio

Figura 27


Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1
vehículo
Fab-IL-2 wt-Fab de 28H1
% de supervivencia
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
1
6
11
16
21
26
31
36
41
día de estudio



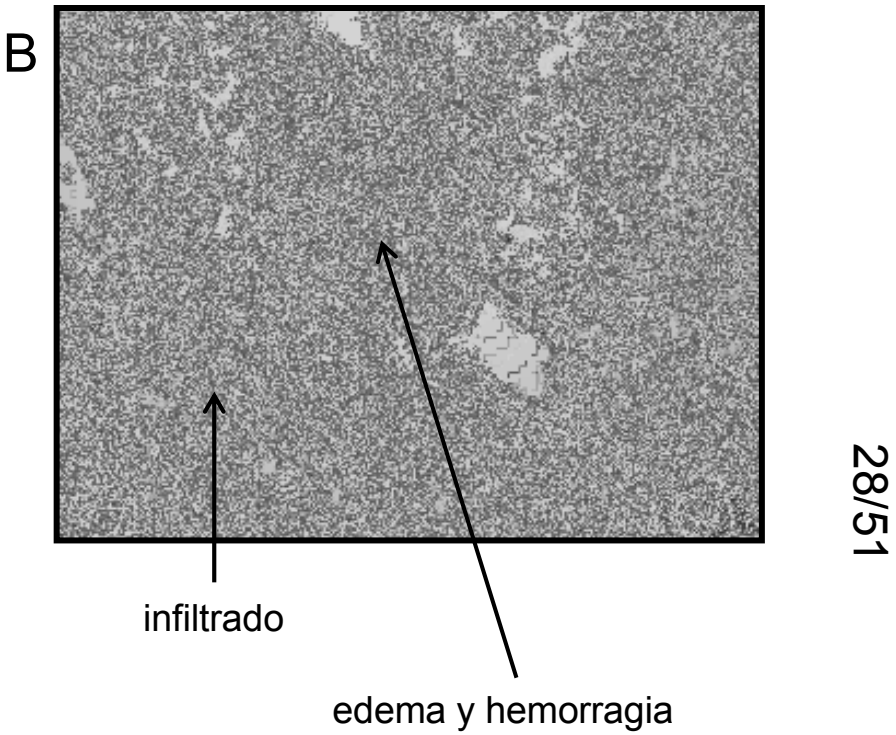
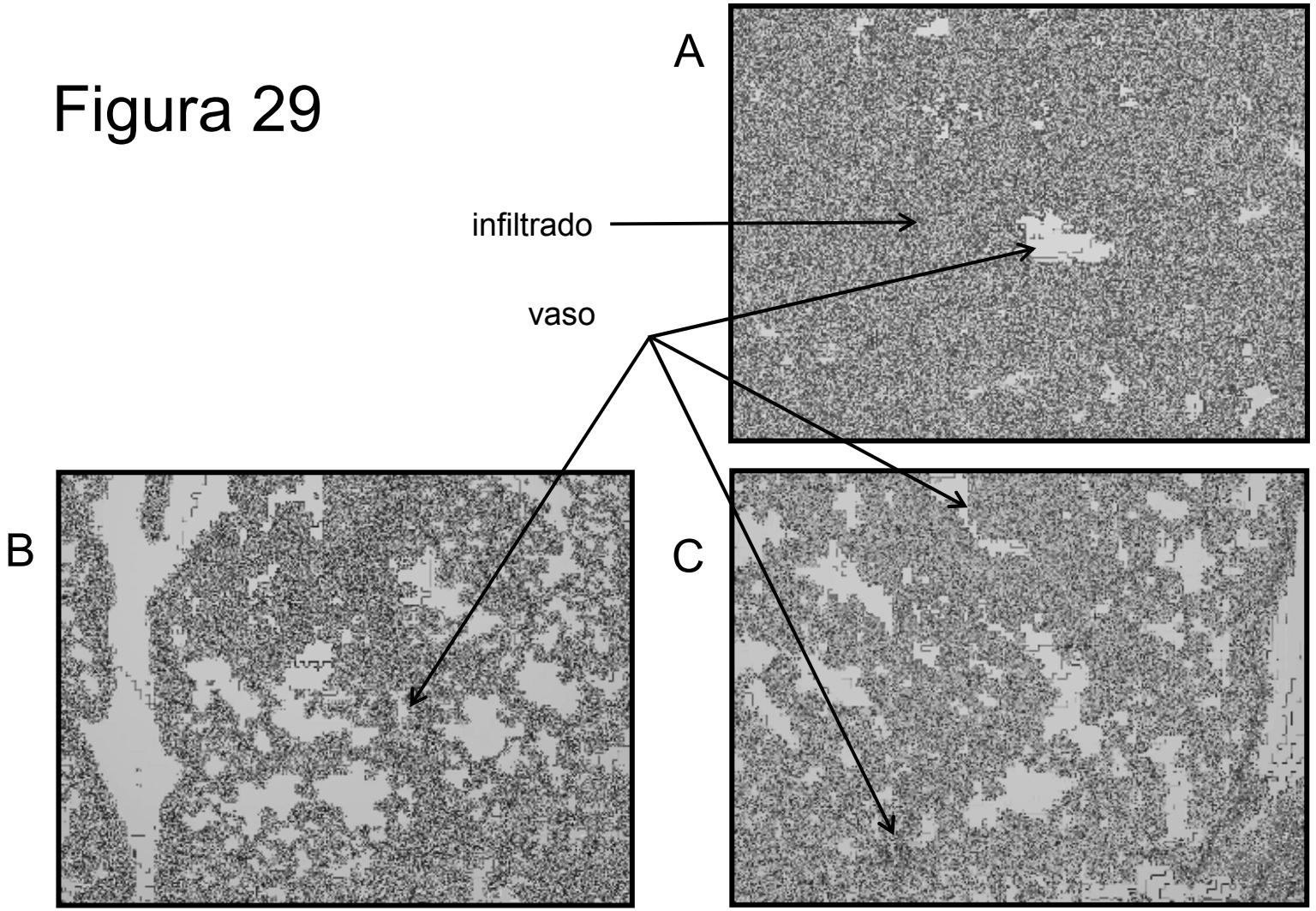


Figura 28

Figura 29



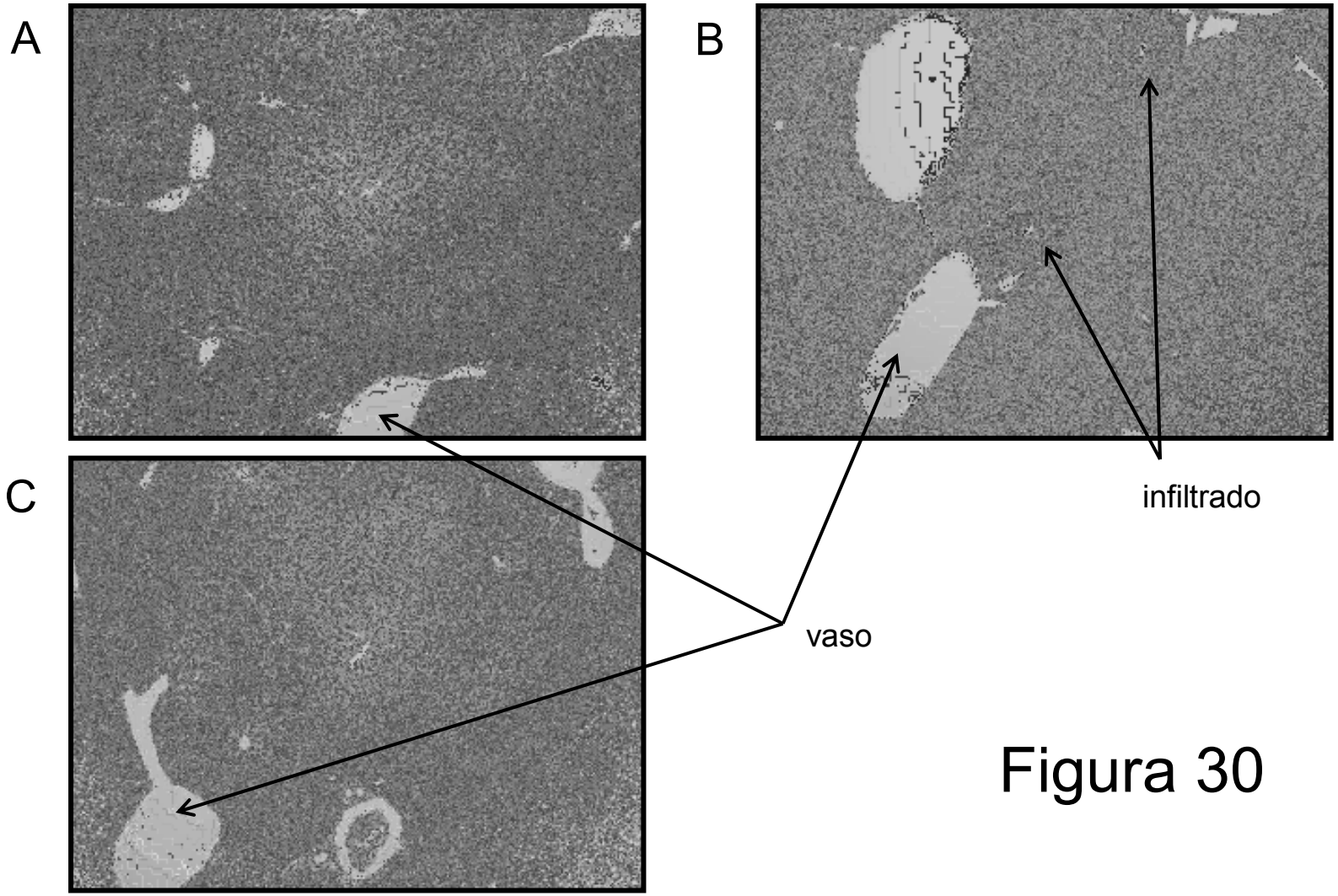


Figura 30

Figura 31

A

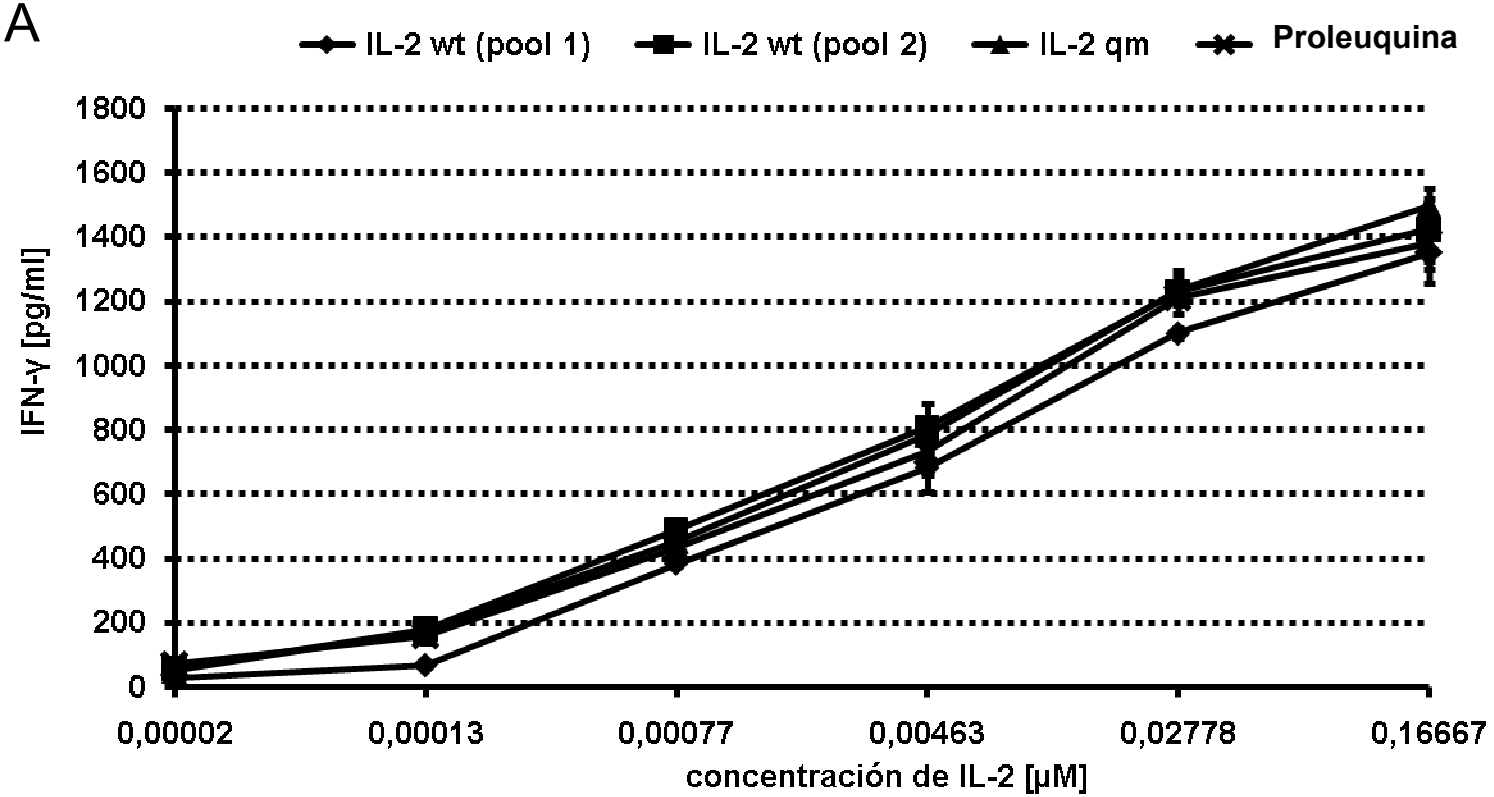

IL-2 wt (pool 1)
IL-2 wt (pool 2)
IL-2 qm
Proleuquina
IFN-γ [pg/ml]
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0,00002
0,00013
0,00077
0,00463
0,02778
0,16667
concentración de IL-2 [µM]

Figura 31

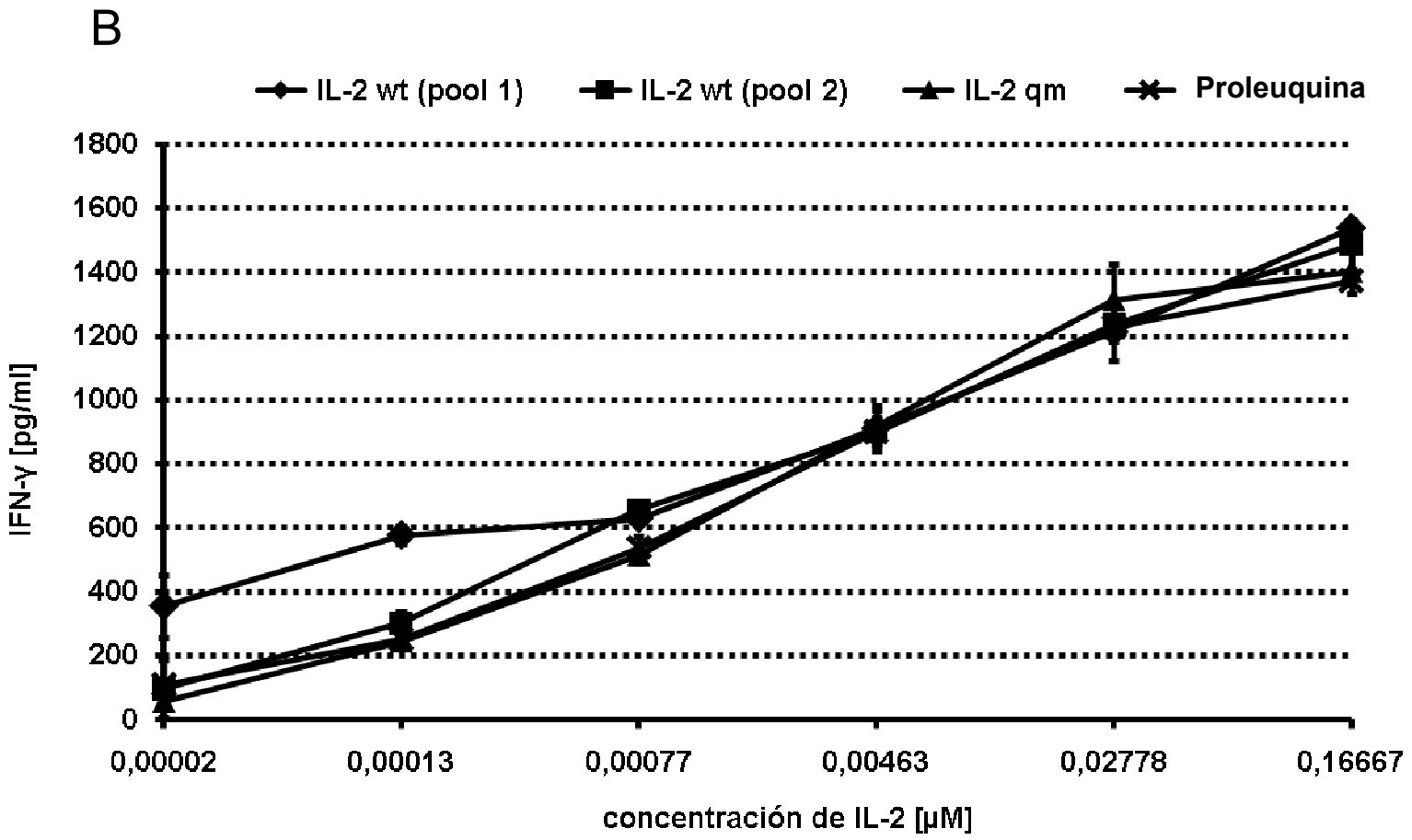

B
IL-2 wt (pool 1)
IL-2 wt (pool 2)
IL-2 qm
Proleuquina
IFN-γ [pg/ml]
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0,00002
0,00013
0,00077
0,00463
0,02778
0,16667
concentración de IL-2 [µM]

Figura 32

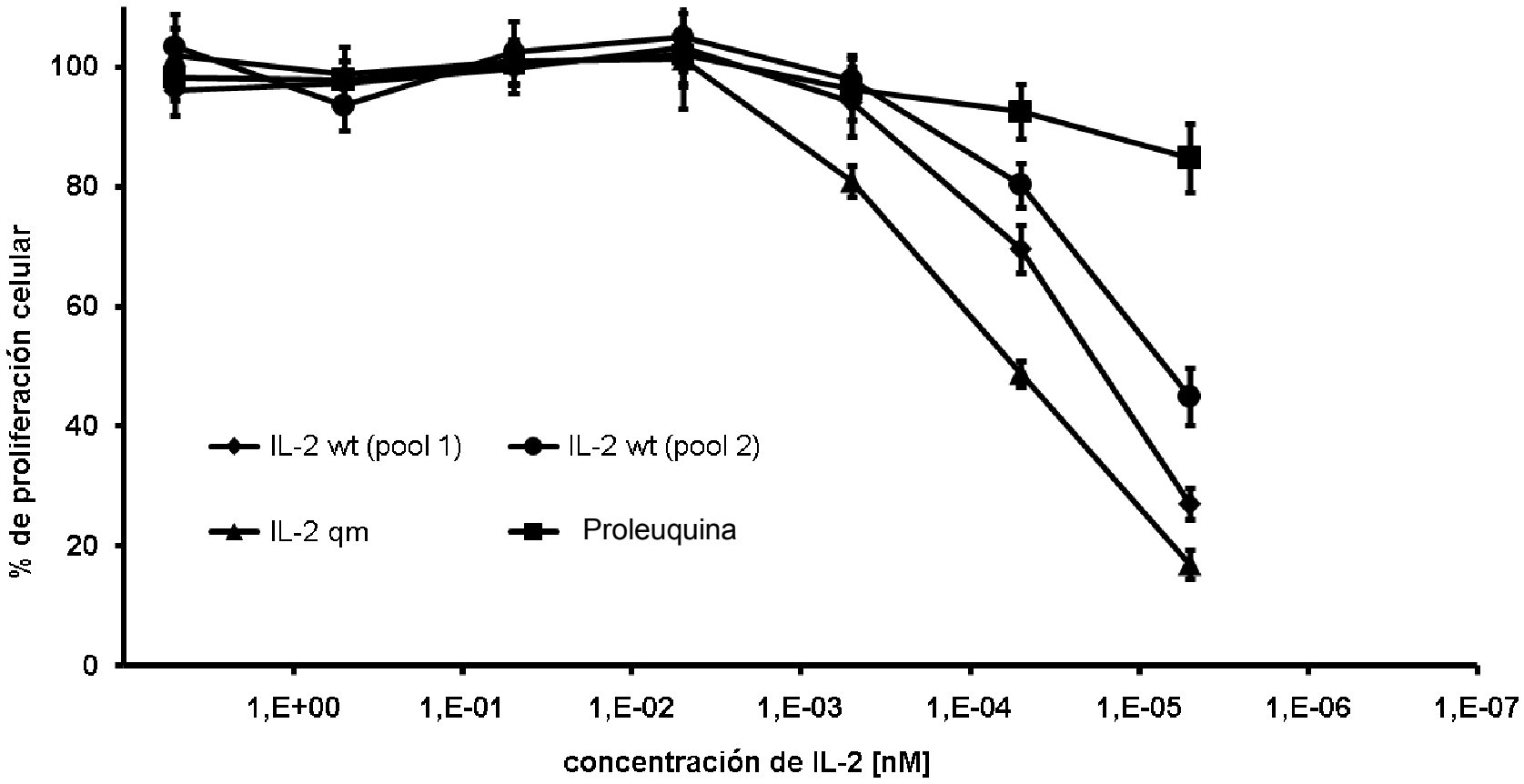
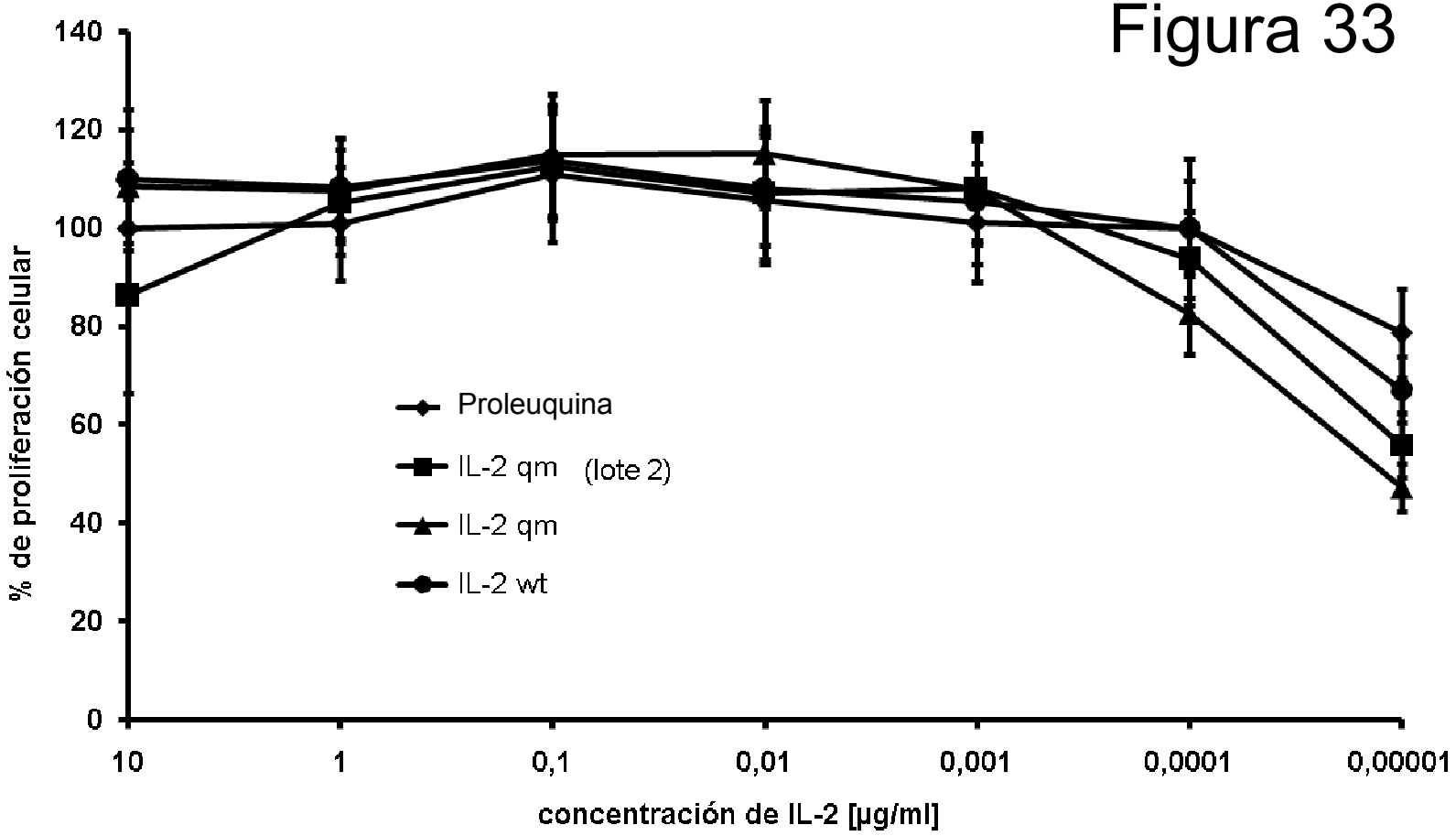
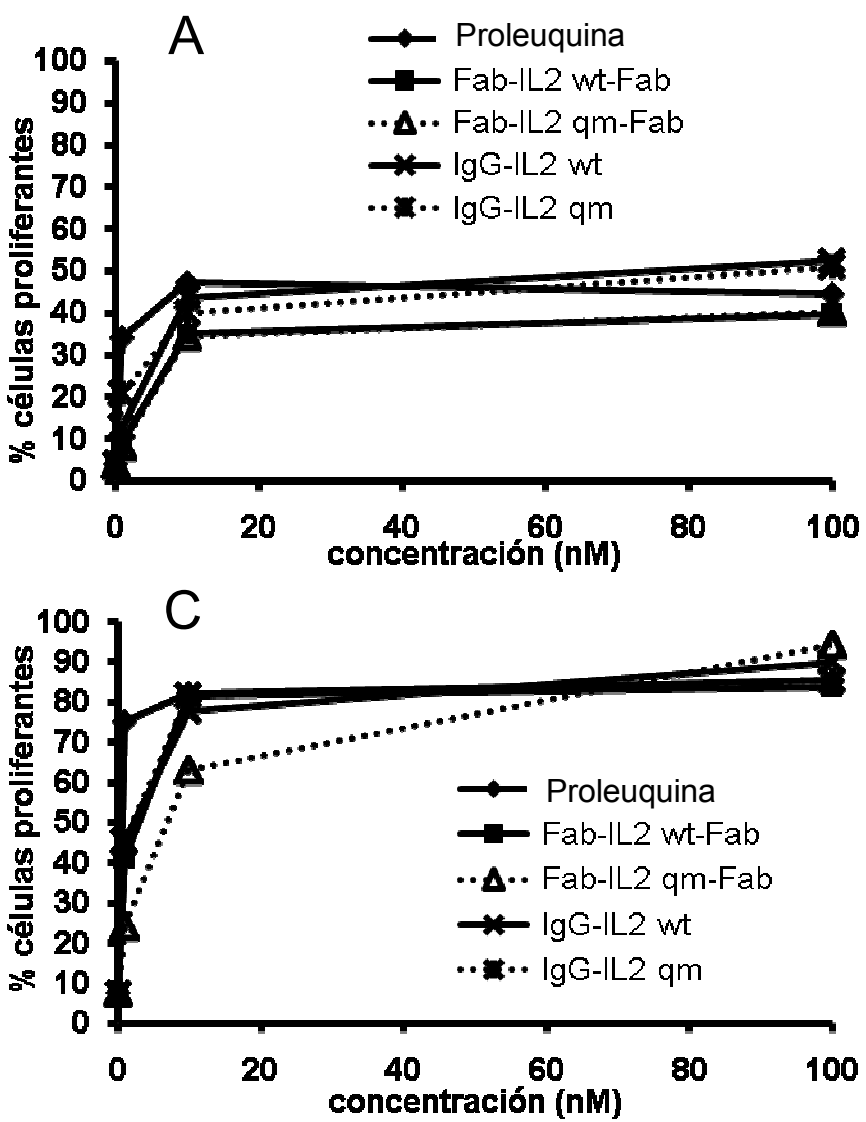
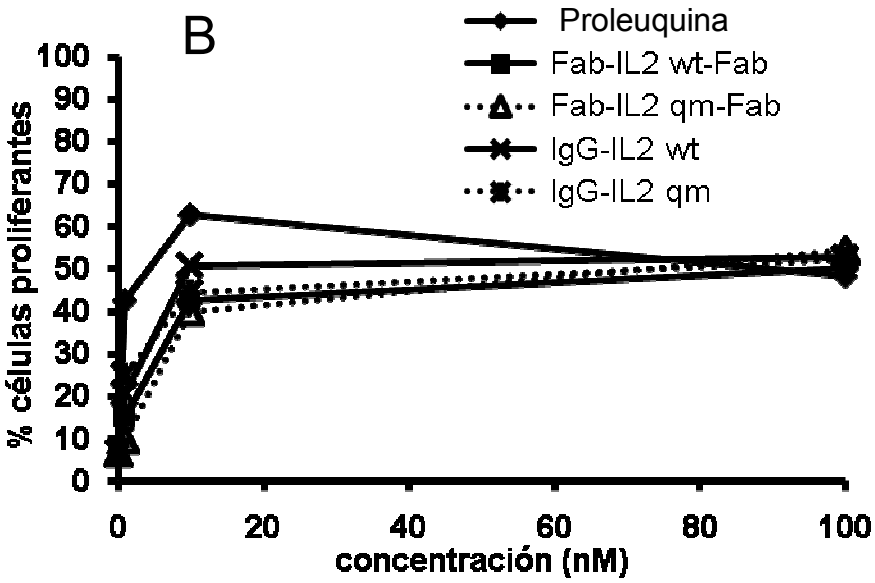

% de proliferación celular
100
80
60
40
20
0
IL-2 wt (pool 1)
IL-2 wt (pool 2)
IL-2 qm
Proleuquina
1,E+00
1,E-01
1,E-02
1,E-03
1,E-04
1,E-05
1,E-06
1,E-07
concentración de IL-2 [nM]

Figura 33

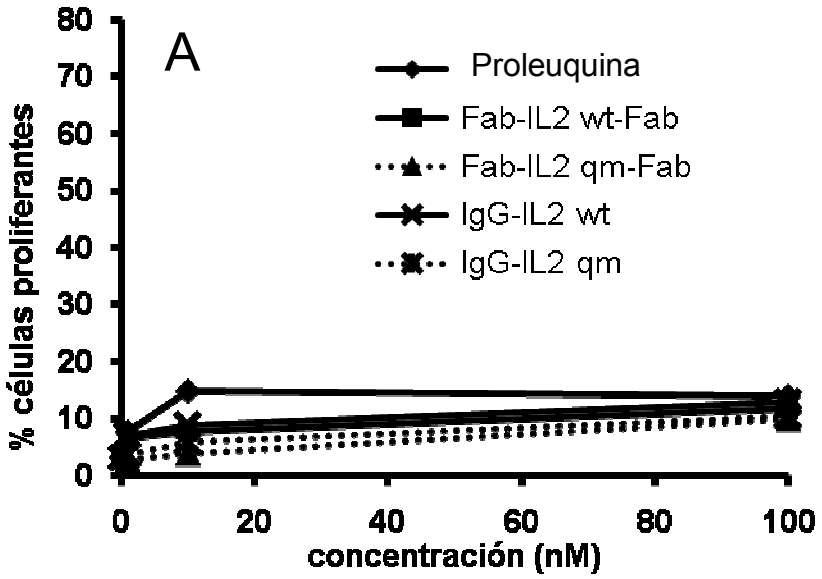

140
120
100
80
60
40
20
0
% de proliferación celular
Proleuquina
IL-2 qm (lote 2)
IL-2 qm
IL-2 wt
10
1
0,1
0,01
0,001
0,0001
0,00001
concentración de IL-2 [µg/ml]

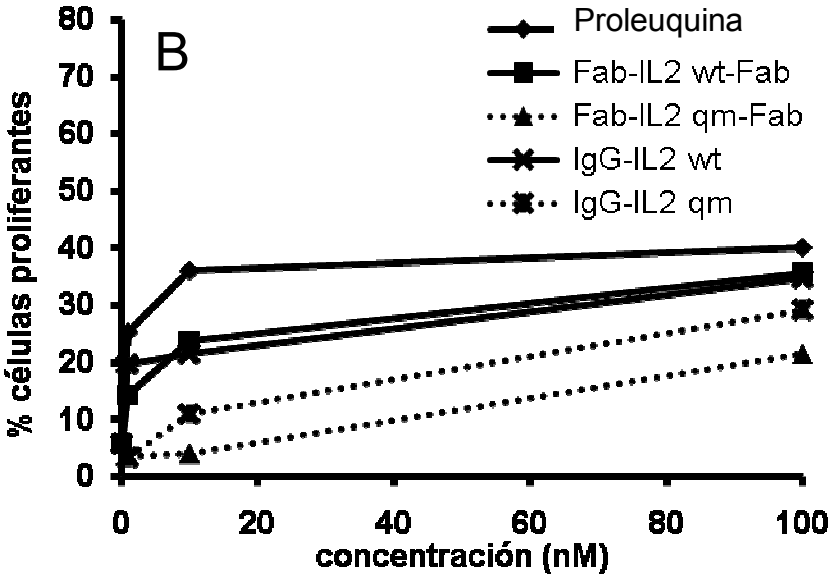

A
Proleuquina
Fab-IL2 wt-Fab
Fab-IL2 qm-Fab
IgG-IL2 wt
IgG-IL2 qm
% células proliferantes
concentración (nM)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
0
20
40
60
80
100

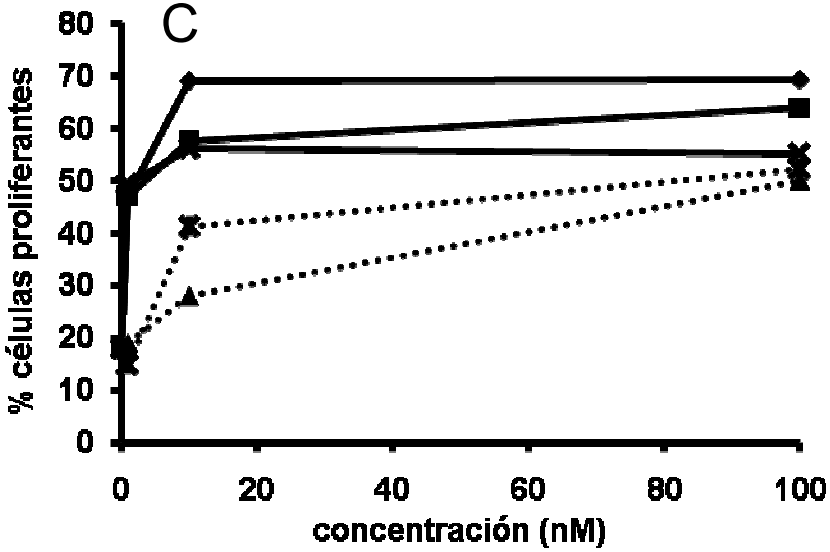

B
Proleuquina
Fab-IL2 wt-Fab
Fab-IL2 qm-Fab
IgG-IL2 wt
IgG-IL2 qm
% células proliferantes
concentración (nM)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
0
20
40
60
80
100

C
Proleuquina
Fab-IL2 wt-Fab
Fab-IL2 qm-Fab
IgG-IL2 wt
IgG-IL2 qm
% células proliferantes
concentración (nM)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
0
20
40
60
80
100

Figura 34


A
Proleuquina
Fab-IL2 wt-Fab
Fab-IL2 qm-Fab
IgG-IL2 wt
IgG-IL2 qm
% células proliferantes
concentración (nM)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
0
20
40
60
80
100


B
Proleuquina
Fab-IL2 wt-Fab
Fab-IL2 qm-Fab
IgG-IL2 wt
IgG-IL2 qm
% células proliferantes
concentración (nM)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
0
20
40
60
80
100


C
% células proliferantes
concentración (nM)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
0
20
40
60
80
100

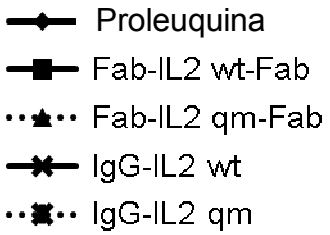
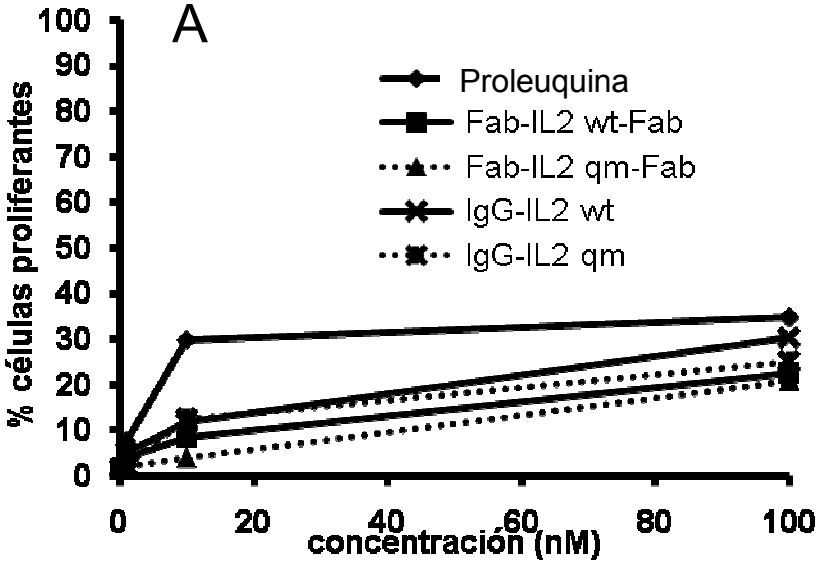
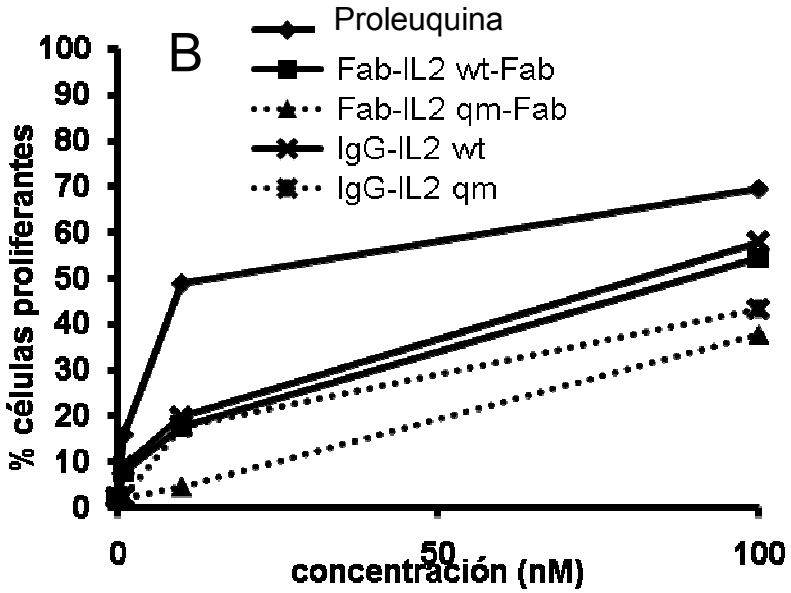

Proleuquina
Fab-IL2 wt-Fab
Fab-IL2 qm-Fab
IgG-IL2 wt
IgG-IL2 qm

Figura 35


A
% células proliferantes
concentración (nM)
Proleuquina
Fab-IL2 wt-Fab
Fab-IL2 qm-Fab
IgG-IL2 wt
IgG-IL2 qm


B
% células proliferantes
concentración (nM)
Proleuquina
Fab-IL2 wt-Fab
Fab-IL2 qm-Fab
IgG-IL2 wt
IgG-IL2 qm

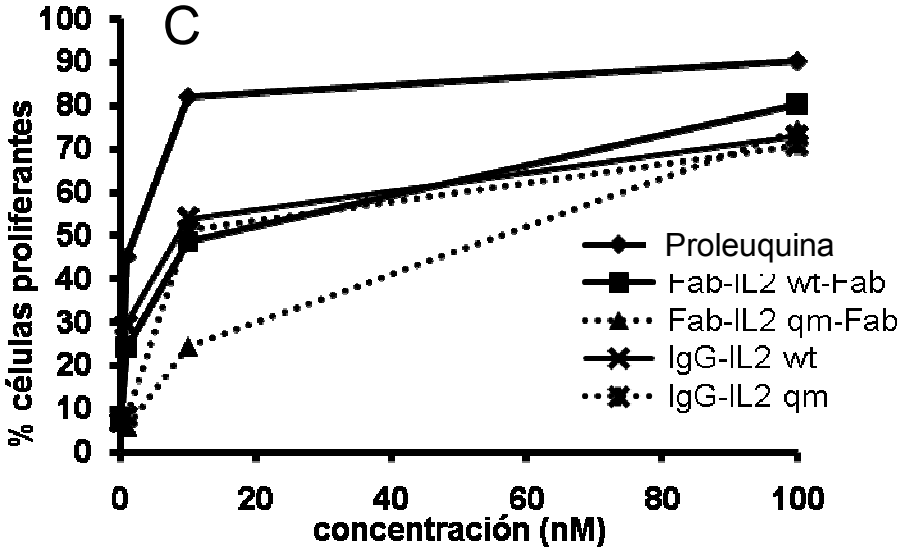
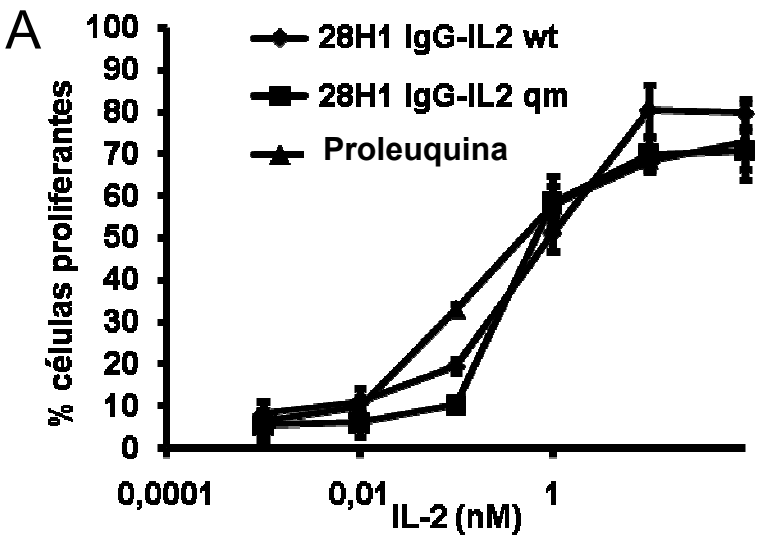
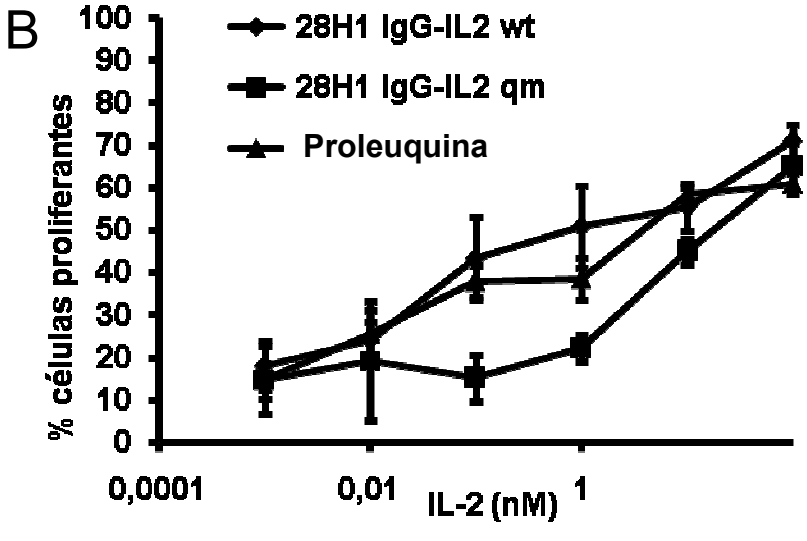

C
% células proliferantes
concentración (nM)
Proleuquina
Fab-IL2 wt-Fab
Fab-IL2 qm-Fab
IgG-IL2 wt
IgG-IL2 qm

Figura 36


A
28H1 IgG-IL2 wt
28H1 IgG-IL2 qm
Proleuquina
% células proliferantes
IL-2 (nM)
0,0001
0,01
1


B
28H1 IgG-IL2 wt
28H1 IgG-IL2 qm
Proleuquina
% células proliferantes
IL-2 (nM)
0,0001
0,01
1

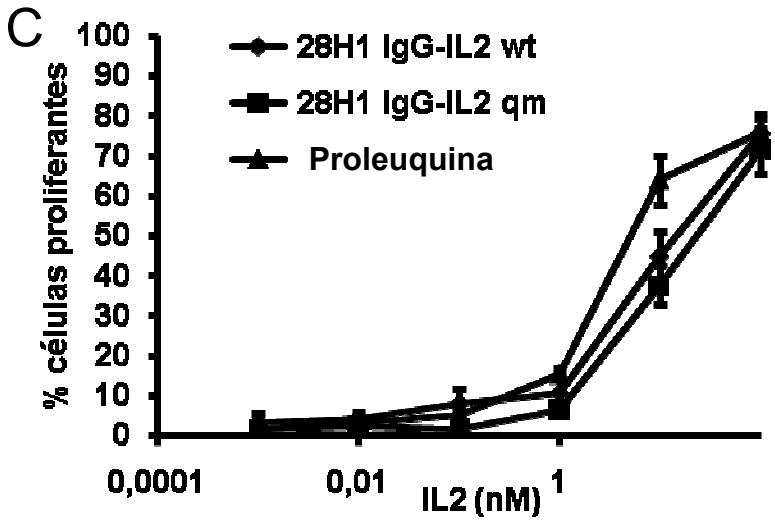

C
28H1 IgG-IL2 wt
28H1 IgG-IL2 qm
Proleuquina
% células proliferantes
IL2 (nM)
0,0001
0,01
1

Figura 37

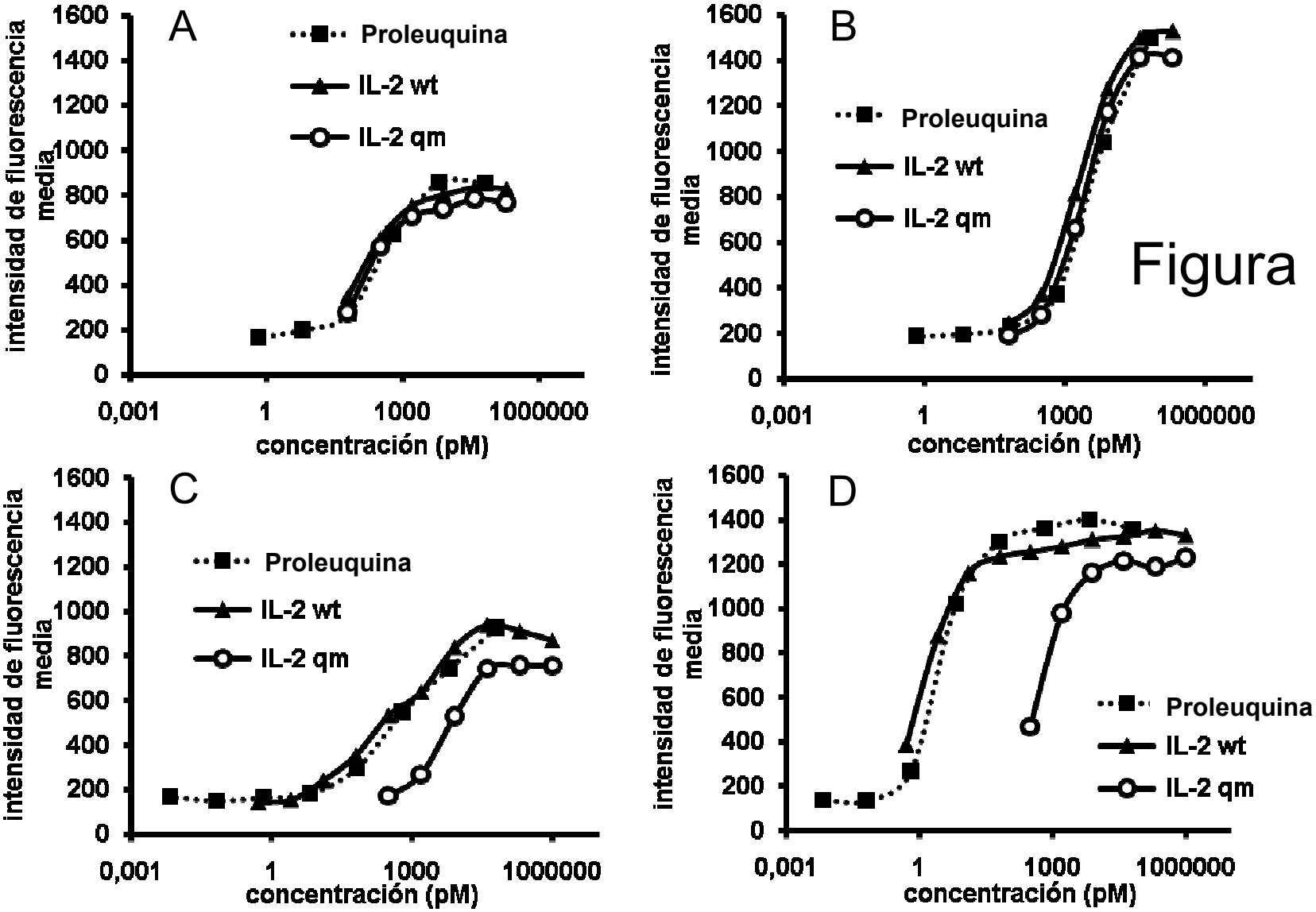

A
B
C
D
Proleuquina
IL-2 wt
IL-2 qm
intensidad de fluorescencia media
concentración (pM)
0
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600
0,001
1
1000
1000000

Figura 38

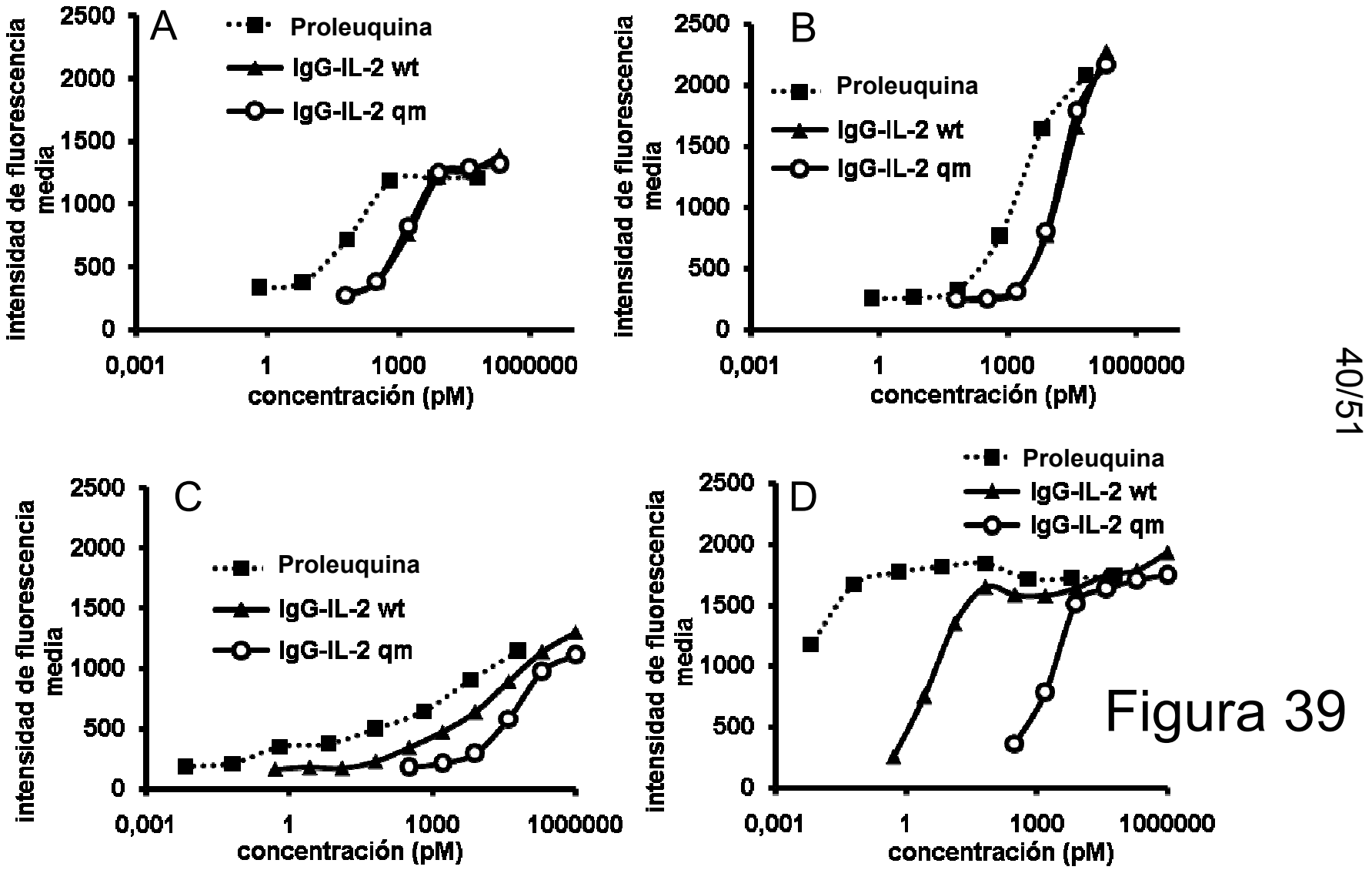

A
B
C
D
Proleuquina
IgG-IL-2 wt
IgG-IL-2 qm
intensidad de fluorescencia media
concentración (pM)
2500
2000
1500
1000
500
0
0,001
1
1000
1000000

Figura 39

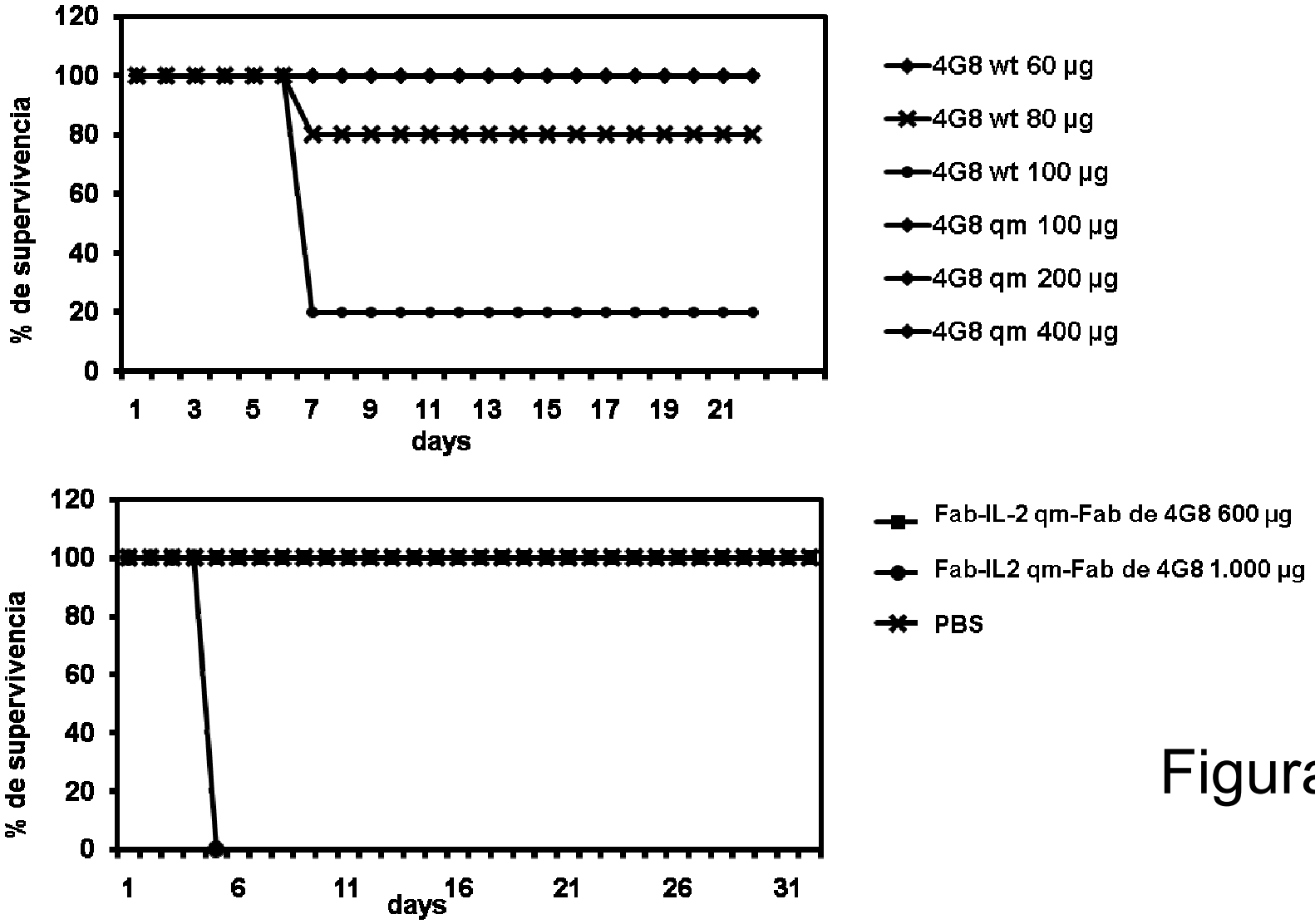
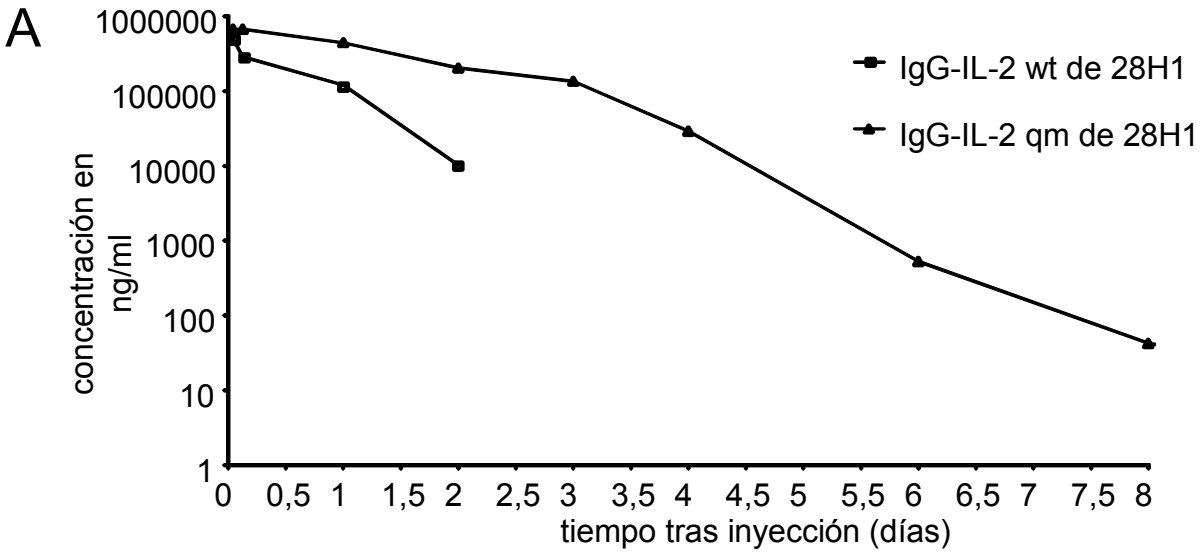

120
100
80
60
40
20
0
% de supervivencia
1 3 5 7 9 11 13 15 17 19 21
days
4G8 wt 60 µg
4G8 wt 80 µg
4G8 wt 100 µg
4G8 qm 100 µg
4G8 qm 200 µg
4G8 qm 400 µg
120
100
80
60
40
20
0
% de supervivencia
1 6 11 16 21 26 31
days
Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8 600 µg
Fab-IL2 qm-Fab de 4G8 1.000 µg
PBS

Figura 40


A
1000000
100000
10000
1000
100
10
1
concentración en ng/ml
0 0,5 1 1,5 2 2,5 3 3,5 4 4,5 5 5,5 6 6,5 7 7,5 8
tiempo tras inyección (días)
IgG-IL-2 wt de 28H1
IgG-IL-2 qm de 28H1

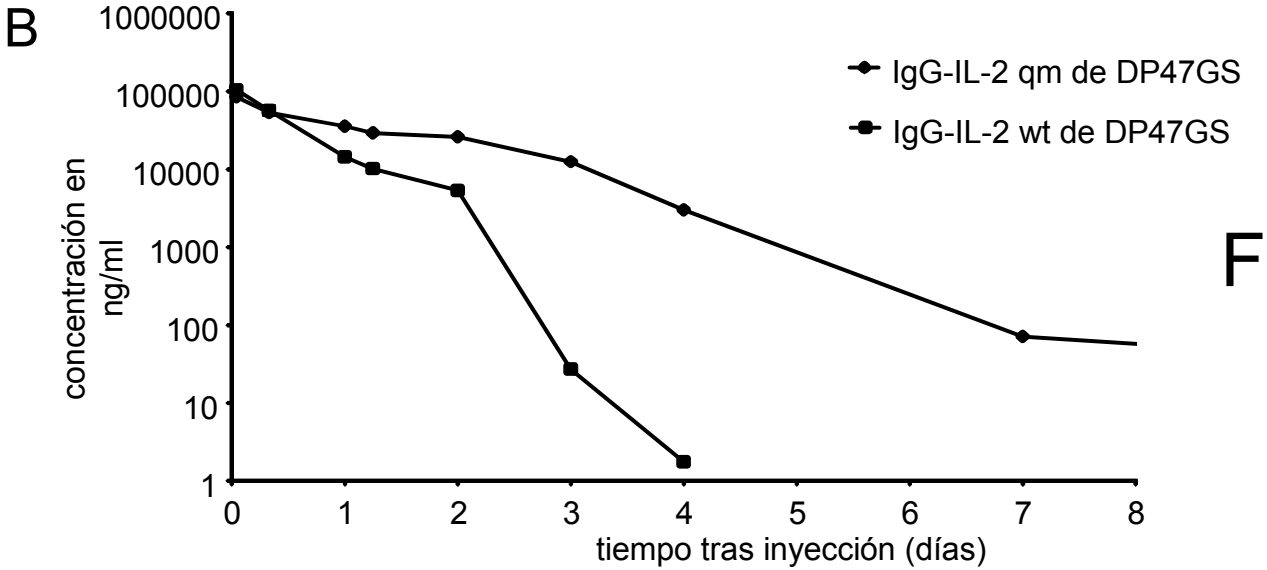

B
1000000
100000
10000
1000
100
10
1
concentración en ng/ml
0 1 2 3 4 5 6 7 8
tiempo tras inyección (días)
IgG-IL-2 qm de DP47GS
IgG-IL-2 wt de DP47GS

Figura 41

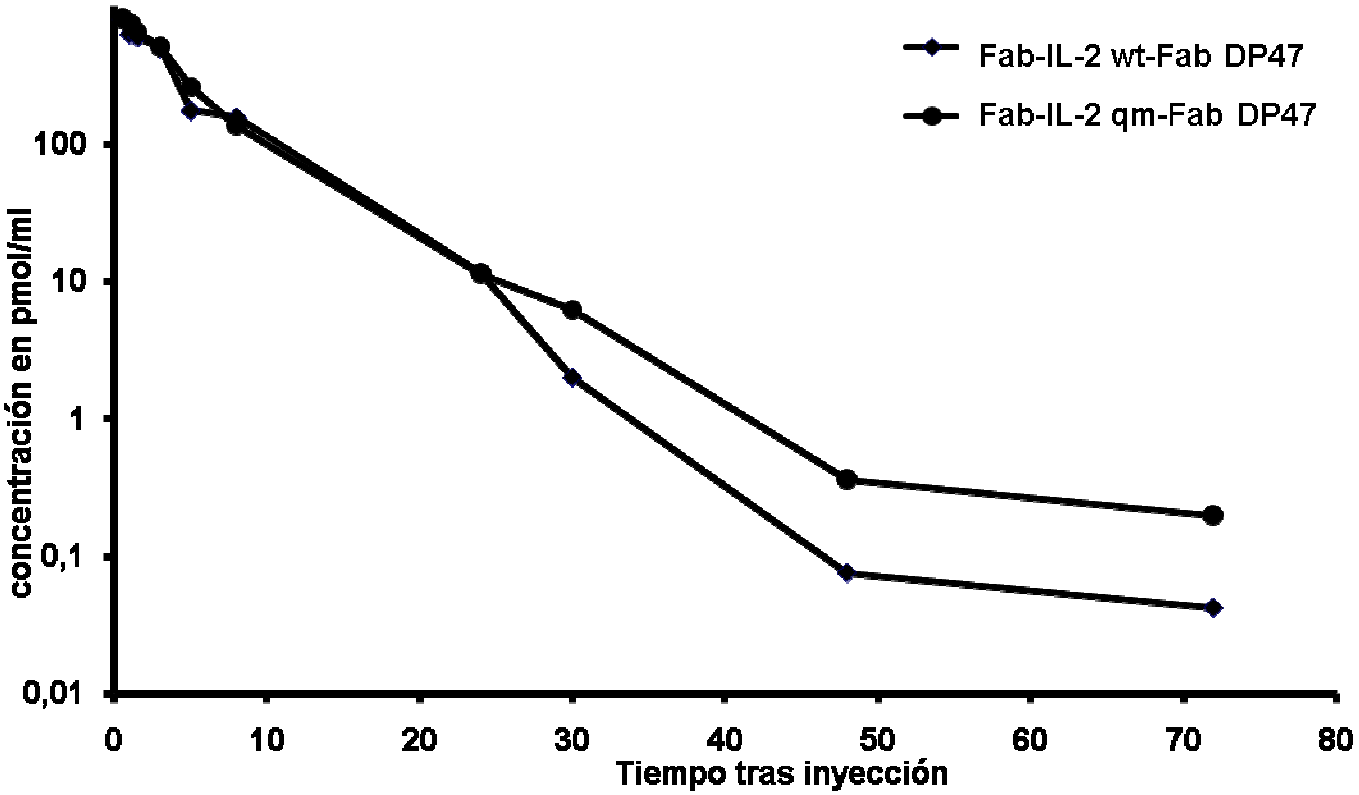
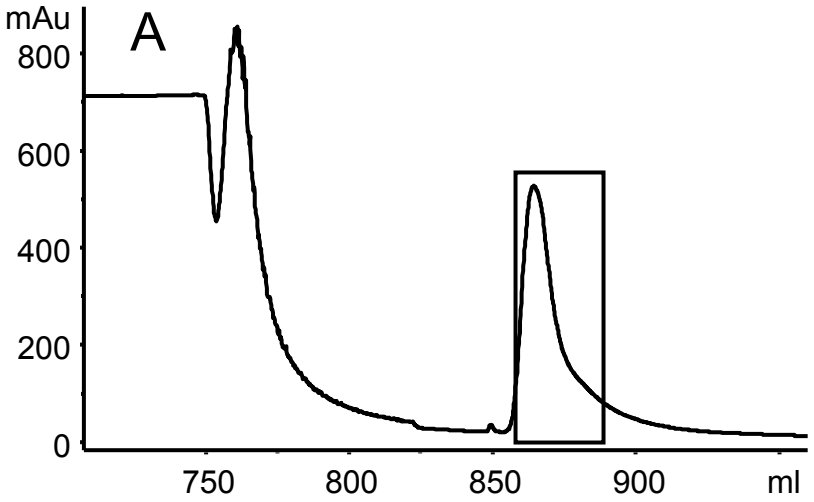
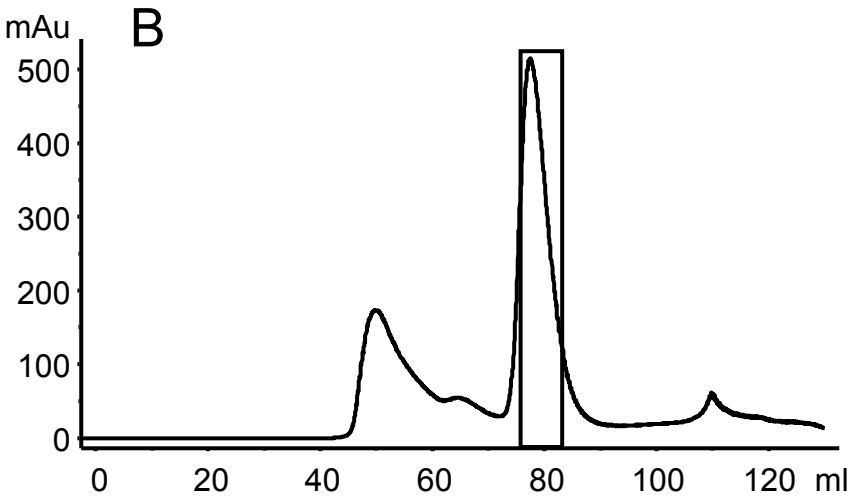
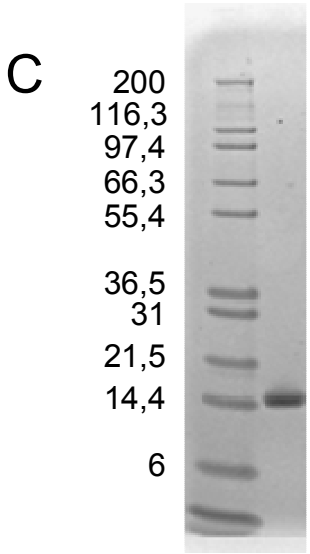

Fab-IL-2 wt-Fab DP47
Fab-IL-2 qm-Fab DP47
concentración en pmol/ml
100
10
1
0,1
0,01
0
10
20
30
40
50
60
70
80
Tiempo tras inyección

Figura 42


A
mAu
800
600
400
200
0
750
800
850
900
ml


B
mAu
500
400
300
200
100
0
0
20
40
60
80
100
120
ml


C
200
116,3
97,4
66,3
55,4
36,5
31
21,5
14,4
6

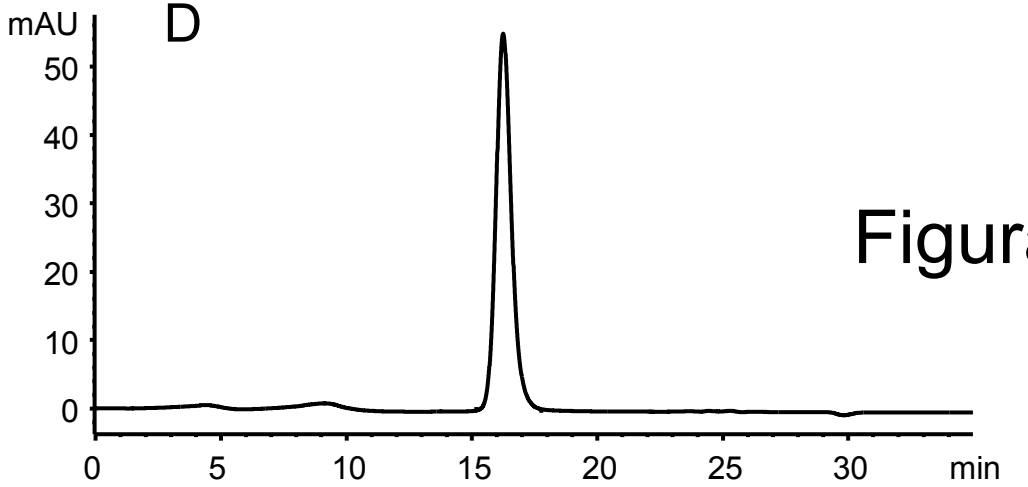
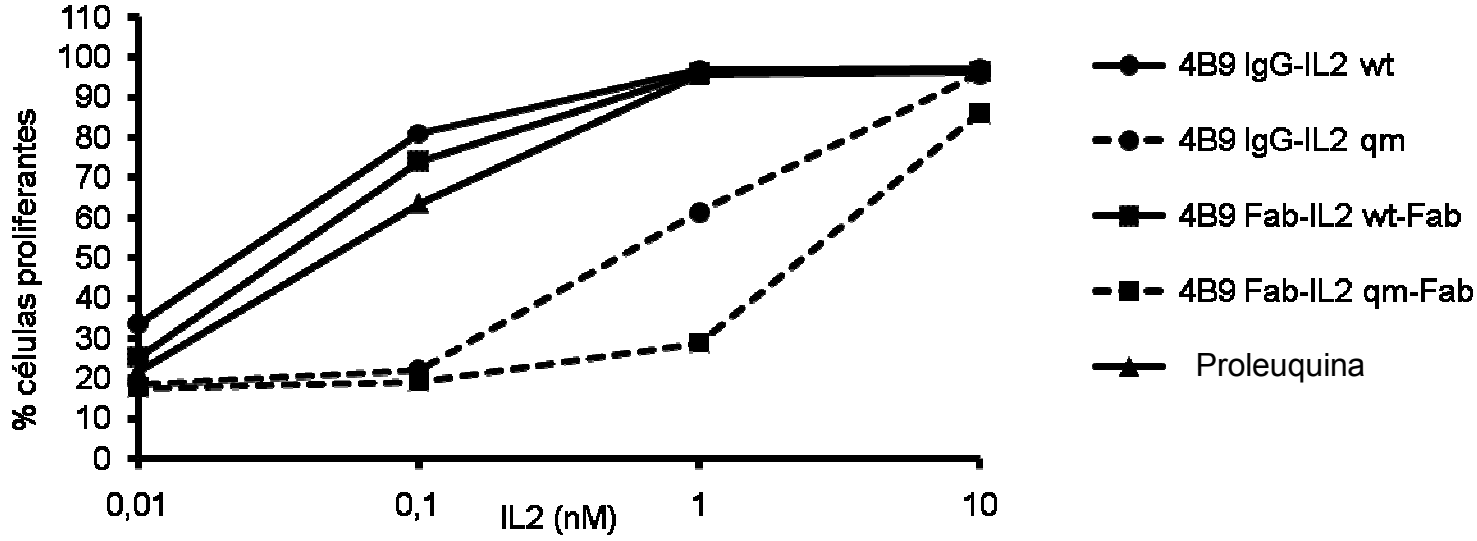

D
mAU
50
40
30
20
10
0
0
5
10
15
20
25
30
min

Figura 43

A


% células proliferantes
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0,01
0,1
IL2 (nM)
1
10
4B9 IgG-IL2 wt
4B9 IgG-IL2 qm
4B9 Fab-IL2 wt-Fab
4B9 Fab-IL2 qm-Fab
Proleuquina

B

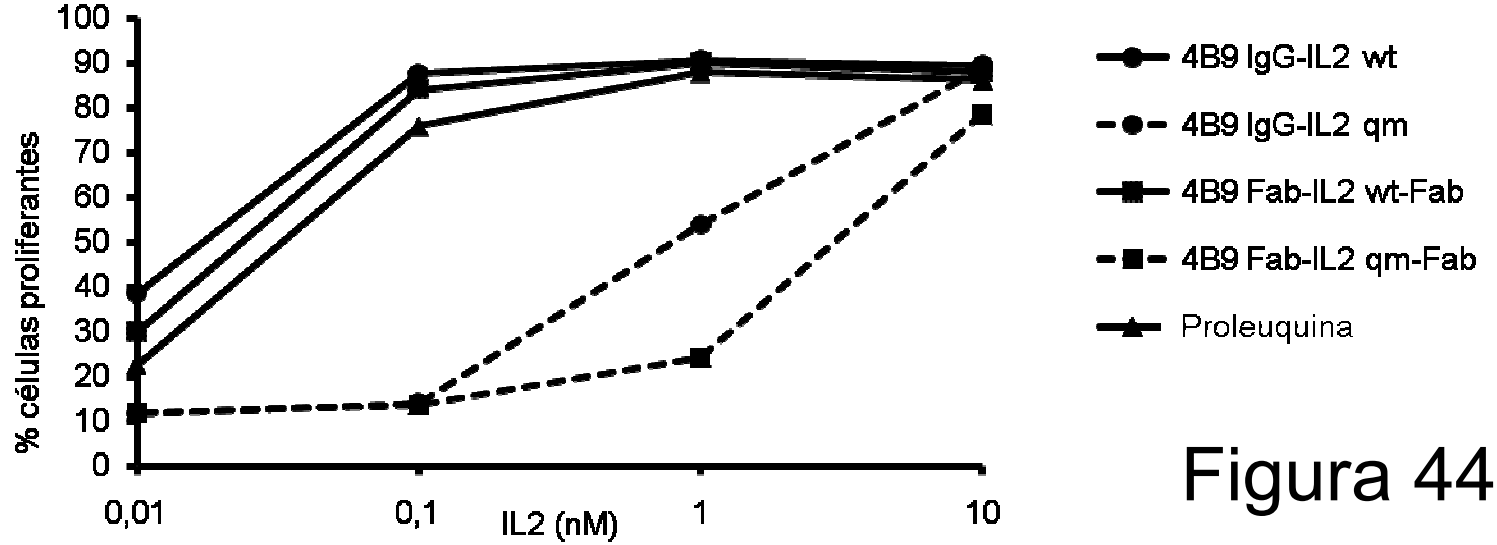

% células proliferantes
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0,01
0,1
IL2 (nM)
1
10
4B9 IgG-IL2 wt
4B9 IgG-IL2 qm
4B9 Fab-IL2 wt-Fab
4B9 Fab-IL2 qm-Fab
Proleuquina

Figura 44

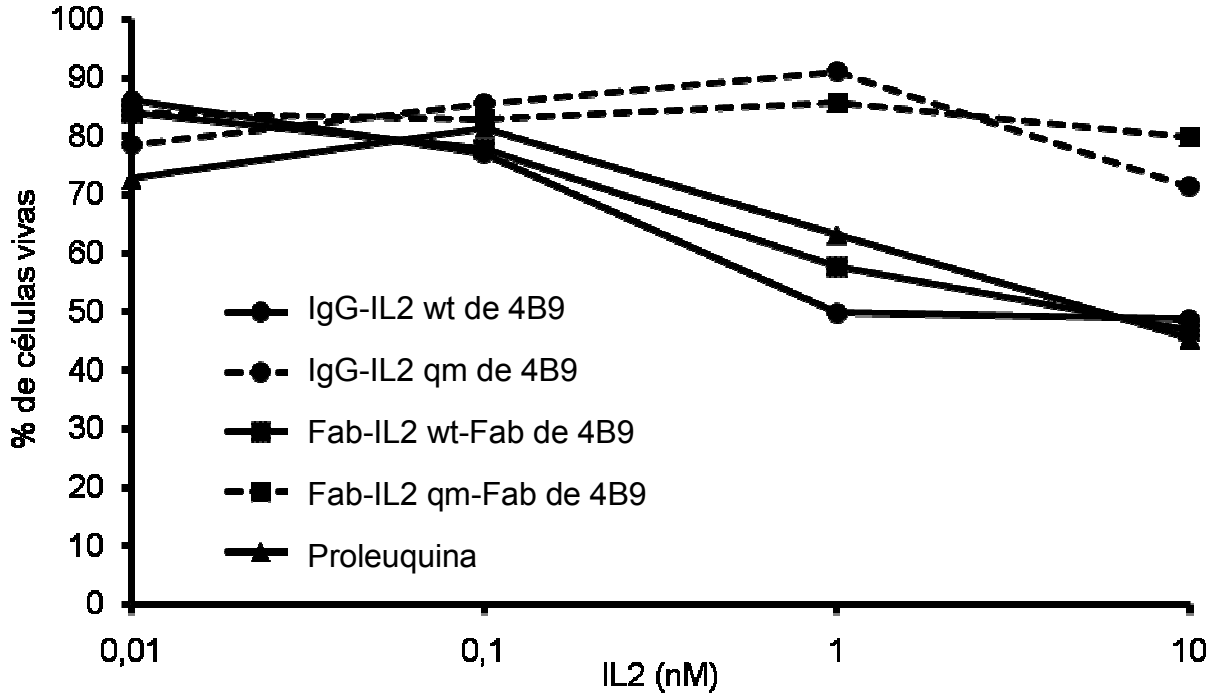
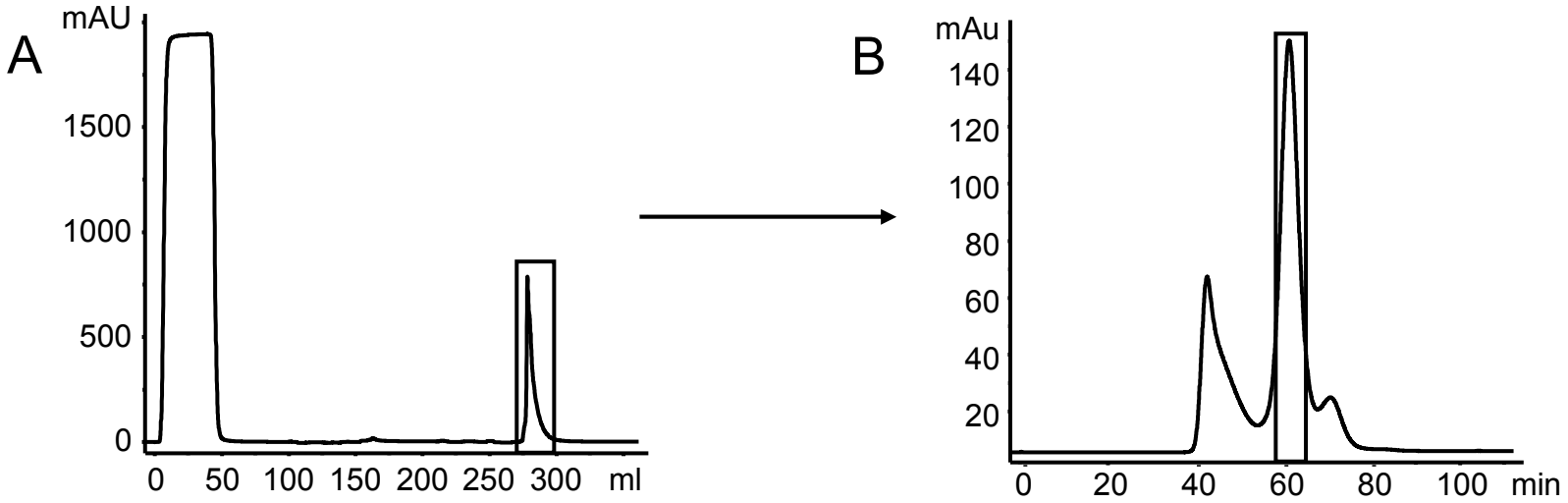
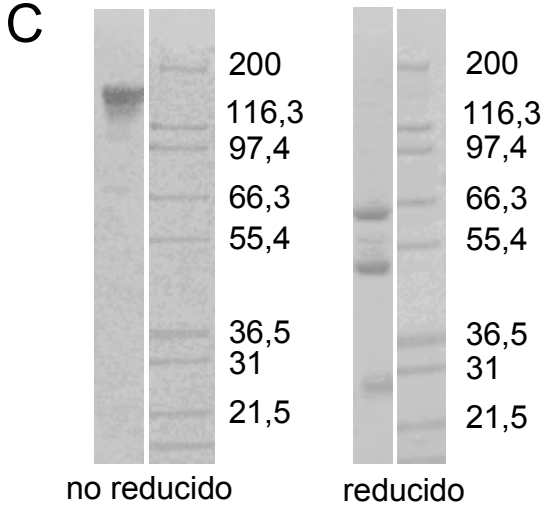

100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
% de células vivas
0,01
0,1
1
10
IL2 (nM)
IgG-IL2 wt de 4B9
IgG-IL2 qm de 4B9
Fab-IL2 wt-Fab de 4B9
Fab-IL2 qm-Fab de 4B9
Proleuquina

Figura 45


A
mAU
1500
1000
500
0
0 50 100 150 200 250 300 ml
B
mAu
140
120
100
80
60
40
20
0 20 40 60 80 100 min


C
200
116,3
97,4
66,3
55,4
36,5
31
21,5
no reducido
200
116,3
97,4
66,3
55,4
36,5
31
21,5
reducido

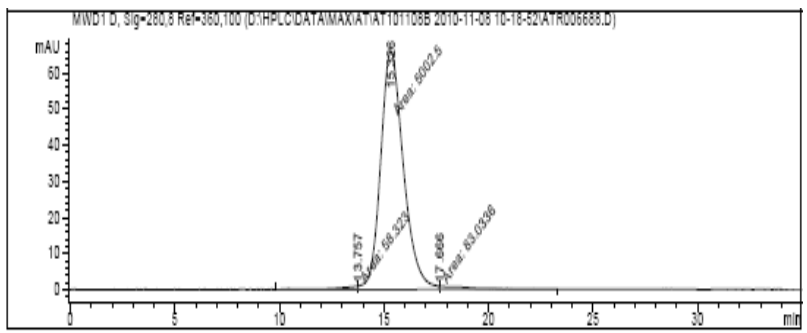

D
mAU
min

Figura 46

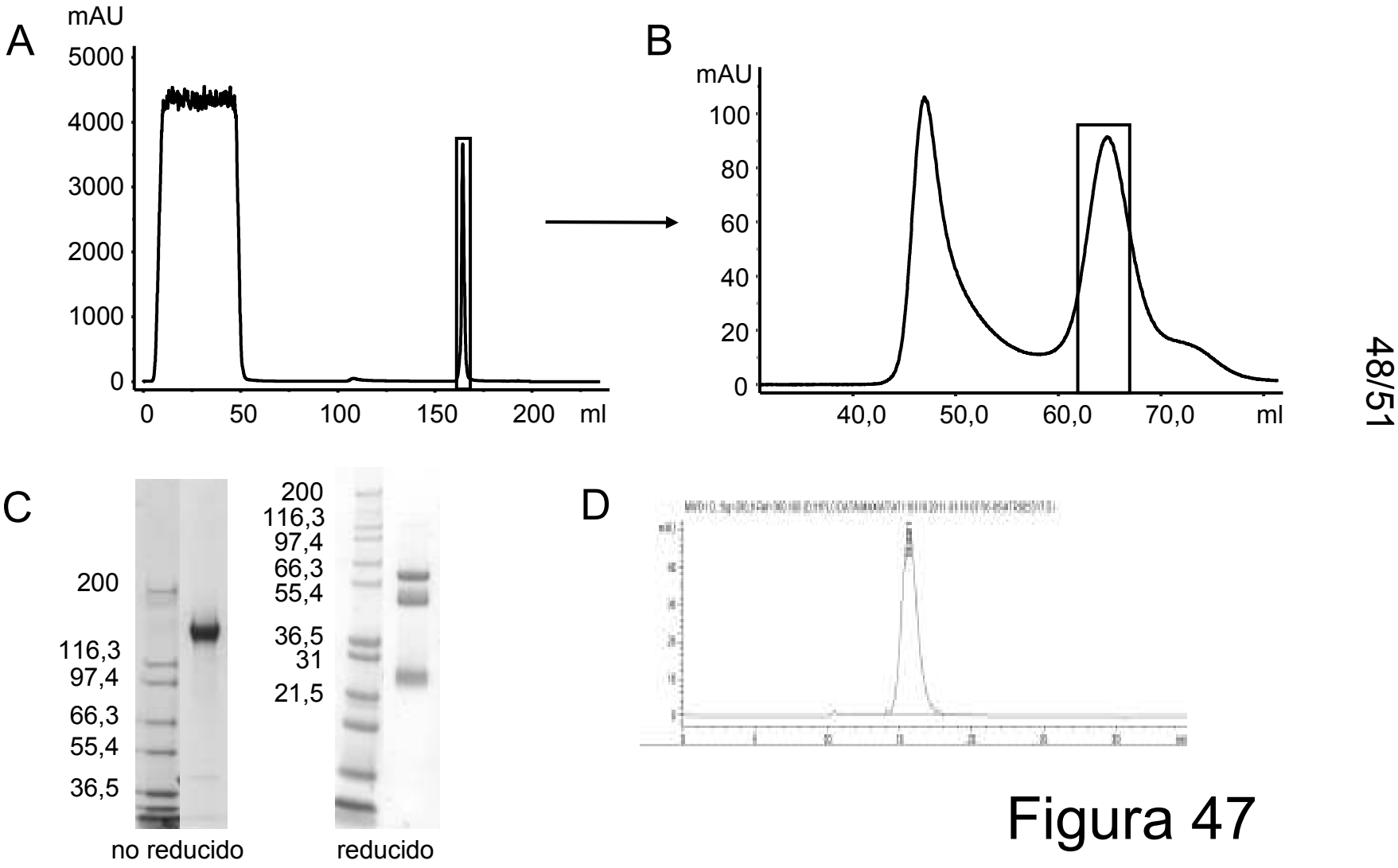

A
mAU
5000
4000
3000
2000
1000
0
0
50
100
150
200
ml
B
mAU
100
80
60
40
20
0
40,0
50,0
60,0
70,0
ml
C
200
116,3
97,4
66,3
55,4
36,5
no reducido
200
116,3
97,4
66,3
55,4
36,5
31
21,5
reducido
D

Figura 47

Figura 48

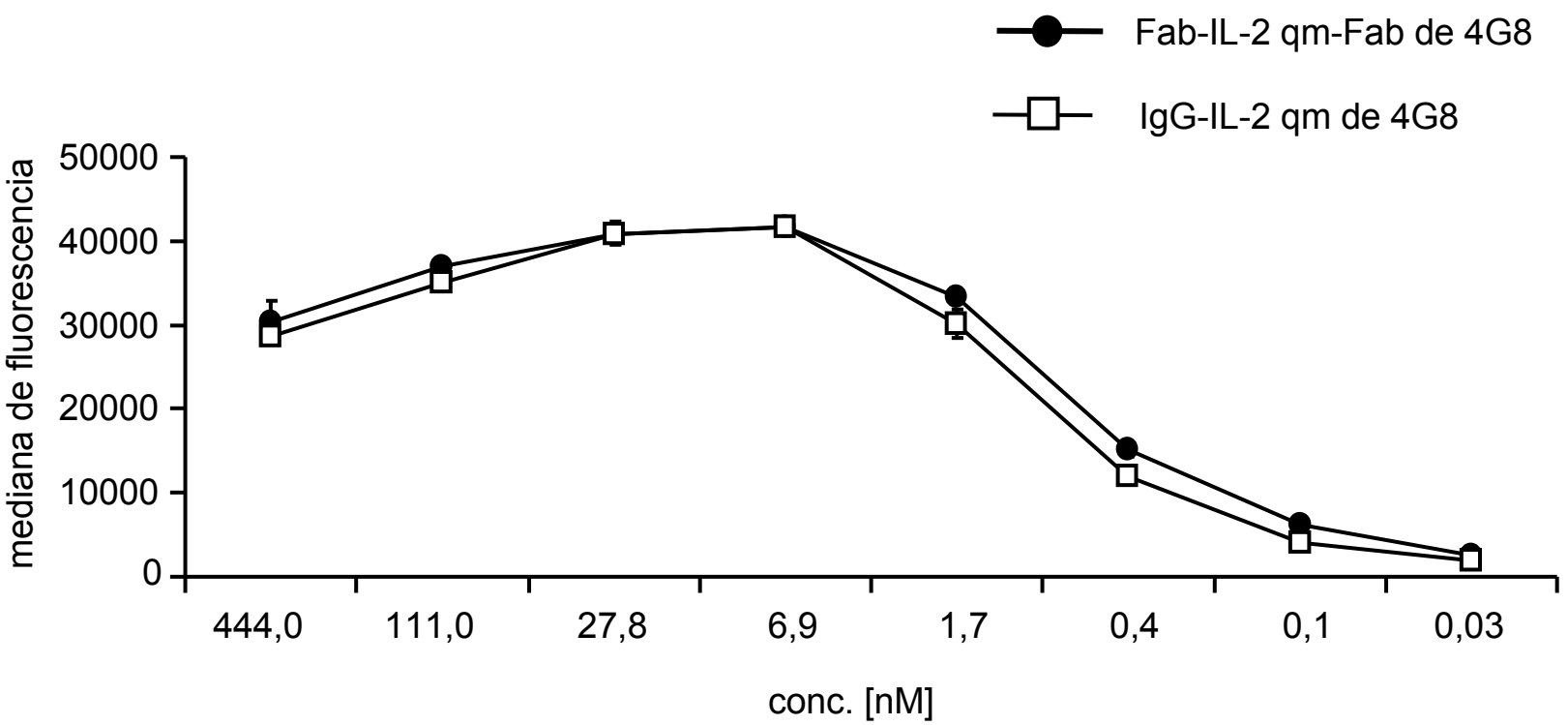

Fab-IL-2 qm-Fab de 4G8
IgG-IL-2 qm de 4G8
mediana de fluorescencia
50000
40000
30000
20000
10000
0
444,0
111,0
27,8
6,9
1,7
0,4
0,1
0,03
conc. [nM]

Figura 49

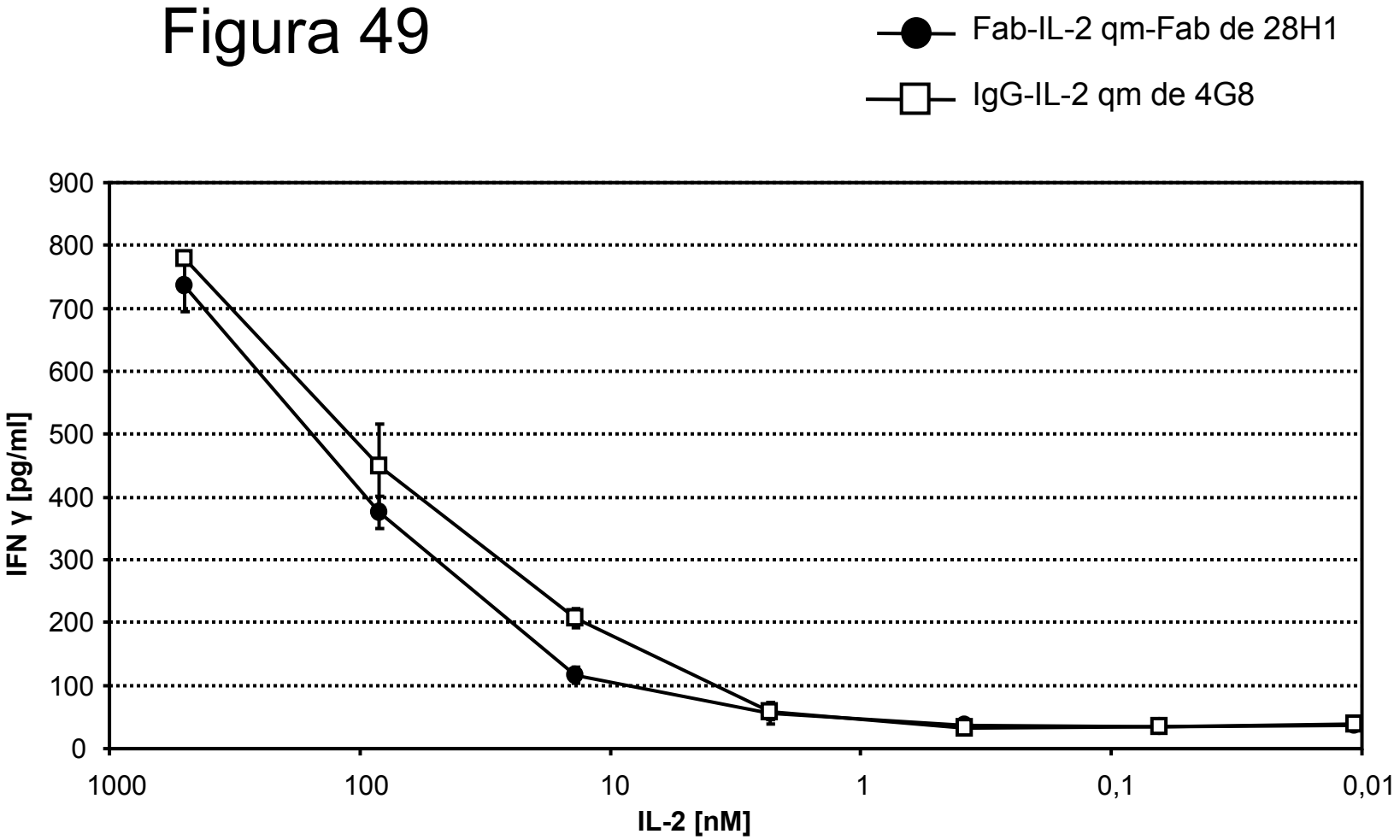
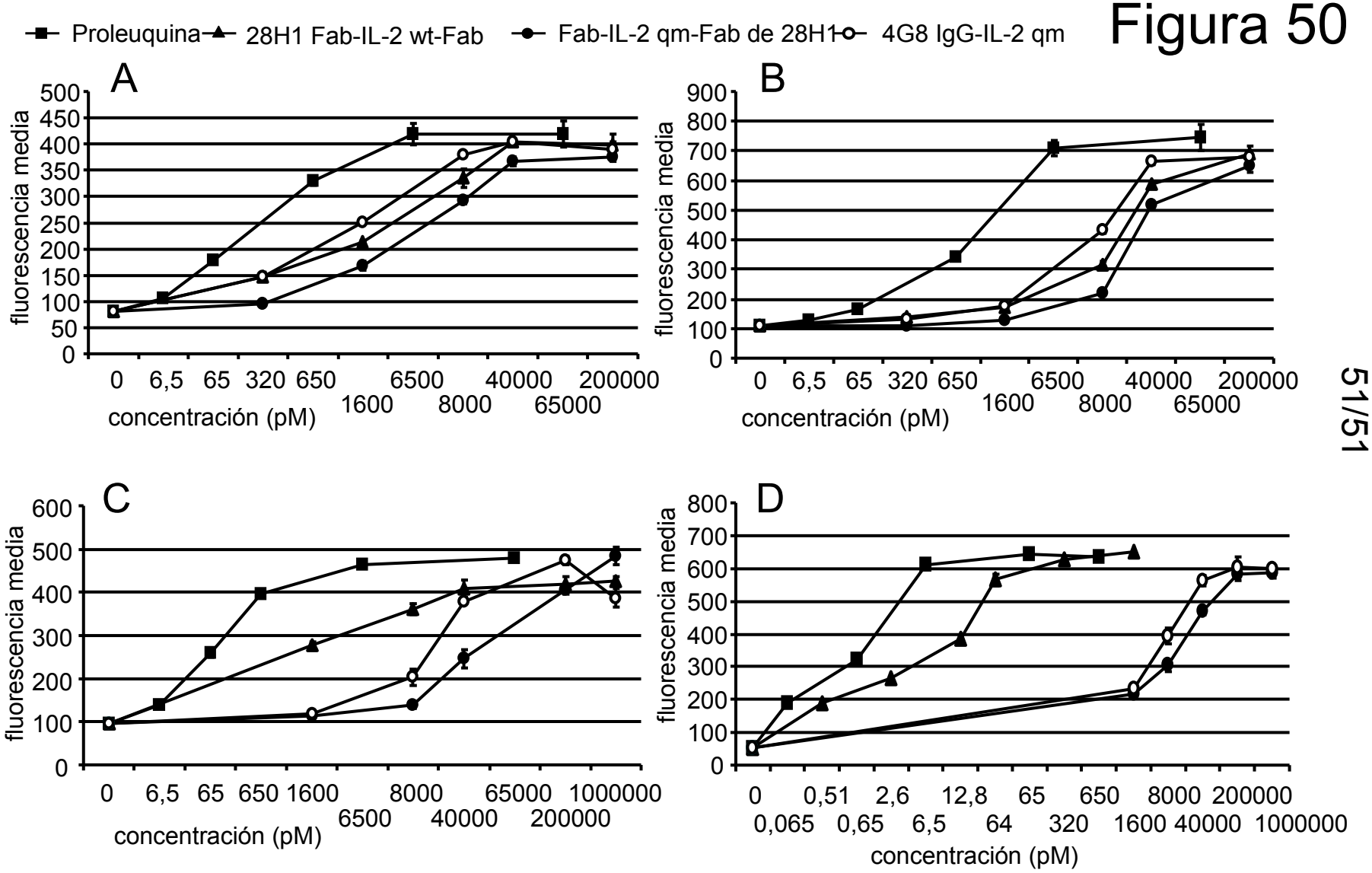

Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1
IgG-IL-2 qm de 4G8
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
IFN γ [pg/ml]
1000
100
10
1
0,1
0,01
IL-2 [nM]

Figura 50


Proleuquina
28H1 Fab-IL-2 wt-Fab
Fab-IL-2 qm-Fab de 28H1
4G8 IgG-IL-2 qm
A
B
C
D
fluorescencia media
concentración (pM)
0 6,5 65 320 650 1600 6500 8000 40000 65000 200000
0 6,5 65 320 650 1600 6500 8000 40000 65000 200000
0 6,5 65 650 1600 6500 8000 40000 65000 200000 1000000
0 0,065 0,51 0,65 2,6 6,5 12,8 64 65 320 650 1600 8000 40000 200000 1000000

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Roche Glycart AG

<120> Polipéptidos interleuquina-2 mutantes

<130> 27307

<150> EP 11153964.9
<151> 2011-02-10

<150> EP 11164237.7
<151> 2011-04-29

<160> 324

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 133
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 1

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

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

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

<400> 2
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct tttgtcaaag catcatctca acactgact 399

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

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

<400> 3

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

<210> 4
<211> 399
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> IL-2 humana de tipo salvaje (C125A) (1)

<400> 4
gctcctacat cctccagcac caagaaaacc agctccagc tggaacatct cctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accttcaagt tctacatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacctggccc agtccaagaa cttccacctg 240

aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 399

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

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

<400> 5
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

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

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

<400> 6
gctcctacta gcagctccac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct gctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accttcaagt tctacatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacctggccc agagcaagaa cttccacctg 240

aggcccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggcagcgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagag catcatcagc accctgaca 399

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

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

<400> 7

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

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

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

<400> 8
gctcctacat cctccagcac caagaaaacc agctccagc tggaacatct cctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accttcaagt tctacatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agtccaagaa cttccacctg 240

aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 399

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

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

<400> 9
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

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

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

<400> 10
gctcctacta gcagctccac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct gctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accttcaagt tctacatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga gaggtgctg aacggcgccc agagcaagaa cttccacctg 240

aggcccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggcagcgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagag catcatcagc accctgaca 399

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

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

<400> 11

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

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

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

<400> 12
gctcctacat cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accgccaagt tctacatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agtccaagaa cttccacctg 240

aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 399

<210> 13

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

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

<400> 13
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acagccaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta atggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

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

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

<400> 14
gctcctacta gcagctccac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct gctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accgccaagt tctacatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agagcaagaa cttccacctg 240

aggcccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggcagcgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagag catcatcagc accctgaca 399

<210> 15
<211> 133

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

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

<400> 15

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

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

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

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

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

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

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

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

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

<400> 16
gctcctacat cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accgccaagt tcgccatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agtccaagaa cttccacctg 240

aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 399

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

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

<400> 17
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 18
<211> 399
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

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

<400> 18
gctcctacta gcagctccac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct gctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accgccaagt tcgccatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agagcaagaa cttccacctg 240

aggcccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggcagcgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagag catcatcagc accctgaca 399

<210> 19
<211> 133
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

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

<400> 19

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

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

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

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

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

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu

85 90 95

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

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

Ile Ser Thr Leu Thr
130

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

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

<400> 20
gctcctgcct cctccagcac caagaaaacc cagctccagc tggaacatct cctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accgccaagt tcgccatgcc caagaaggcc accgagctga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agtccaagaa cttccacctg 240

aggcctcggg acctgatctc caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggctccgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagctacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagtc catcatctcc accctgacc 399

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

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

<400> 21
gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta atggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 22
<211> 399
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> IL-2 mutante cuádruple T3A / F42A / Y45A / L72G (C125A) (3)

<400> 22
gctcctgcca gcagctccac caagaaaacc agctccagc tggaacatct gctgctggat 60

ctgcagatga tcctgaacgg catcaacaac tacaagaacc ccaagctgac ccggatgctg 120

accgccaagt tcgccatgcc caagaaggcc accgaactga aacatctgca gtgcctggaa 180

gaggaactga agcctctgga agaggtgctg aacggcgccc agagcaagaa cttccacctg 240

aggcccaggg acctgatcag caacatcaac gtgatcgtgc tggaactgaa gggcagcgag 300

acaaccttca tgtgcgagta cgccgacgag acagccacca tcgtggaatt tctgaaccgg 360

tggatcacct tcgcccagag catcatcagc accctgaca 399

<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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2B10; VL

<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 ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc 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> ADN
<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 gcagtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2B10; VH

<400> 28
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 actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2F11; VL

<400> 30
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcgtccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagt atactccccc cacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<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
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> ADN
<213> Secuencia artificial

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

<400> 32
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagt atactccccc 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 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 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 2F11; VH

<400> 34
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac atggccgtat attactgtgc gaaatggaga 300

tggatgatgt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 35
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

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

<400> 35

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> ADN
<213> Secuencia artificial

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

<400> 36
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggGtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtat attactgtgc gaaatggaga 300

tggatgatgt ttgactactg gggccaagga accctggtca 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 3F2; VL

<400> 38
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt atccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc 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> ADN
<213> Secuencia artificial

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

<400> 40
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc 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> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 3F2; VH

<400> 42
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 3D9, VL

<400> 44
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagc ttattccccc 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 3D9, VH

<400> 46
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccagact 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attggtgtta gtactggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 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> ADN
<213> Secuencia artificial

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

<400> 48
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attggtgtta gtactggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 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

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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 4G8; VL

<400> 50
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc cgcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcatt ggggcctcca ccagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggacg gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 4G8; VH

<400> 52
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

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

<220>
<223> 4B3; VL

<400> 53

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
<223> 4B3; VL

<400> 54
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcaattact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcgcctaca tcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 4B3; VH

<400> 56
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca 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> ADN
<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 atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 4D6; VH

<400> 60
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

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

<220>
<223> 2C6; VL

<400> 61

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
<223> 2C6; VL

<400> 62
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag caggctggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagc agattccccc 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2C6; VH

<400> 64
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatc cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggga gtgctggtta tacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

tttgggaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 5H5; VL

<400> 66
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag 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
50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

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

<220>
<223> 5H5; VH

<400> 68
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatacca tgagctgggt ccgccggtct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggtg gtggtaggac atactacgca 180

gactccgtga agggccggtt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 240

cagatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtatatt actgtgcgaa aggttggttt 300

acgccttttg actactgggg ccaaggaacc ctggtcaccg tctcgagt 348

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

<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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2C4; VL

<400> 70
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agtaactact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcctcca ttagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtaatc agattccccc tacgttcggt 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

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

<220>
<223> 2C4; VH

<400> 71

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 72
<211> 351

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2C4; VH

<400> 72
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagcggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

tttacgcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 73
<211> 108
<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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2D9; VL

<400> 74
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag 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 Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

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

<220>
<223> 2D9; VH

<400> 76
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagcggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

tttacgcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<210> 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 4B8; VL

<400> 78
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 4B8; VH

<400> 80
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

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

<220>
<223> 7A1; VL

<400> 81

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

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

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

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

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

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

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

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

<220>
<223> 7A1; VL

<400> 82
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag 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 25 30

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

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

<220>
<223> 7A1; VH

<400> 84
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

tttgggaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca 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 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> 86
<211> 324
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 13C2; VL

<400> 86
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 13C2; VH

<400> 88
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

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

<220>
<223> 13E8; VL

<400> 89

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

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

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

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

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

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

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

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

<220>
<223> 13E8; VL

<400> 90
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtctga 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 13E8; VH

<400> 92
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

ttgggtccgt ttgactactg gggccaagga accctggtca 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 14C10; VL

<400> 94
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 14C10; VH

<400> 96
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagcttgg 300

atggggcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag t 351

<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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 17A11; VL

<400> 98
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtctga tattccctc 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 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 17A11; VH

<400> 100
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

ttgggtccgt ttgactactg gggccaagga accctggtca 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 19G1; VL

<400> 102
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc 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
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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 19G1; VH

<400> 104
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcga tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagcg attattagta gtggtggtct cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca 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> ADN
<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 gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 107
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> 20G8; VH

<400> 107

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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 20G8; VH

<400> 108
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcaa tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggga gtggtagtcg tacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 4B9; VL

<400> 110
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc 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 15

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 112
<211> 351
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 4B9; VH

<400> 112
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggta gtggtgctag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca 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 15

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

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

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

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

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

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

<210> 114
<211> 324
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 5B8; VL

<400> 114
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc 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
115

<210> 116
<211> 351
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 5B8; VH

<400> 116
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct atttggggtg gtggtcgtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca 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
100 105

<210> 118
<211> 324
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 5F1; VL

<400> 118
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta 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 25 30

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 120
<211> 351
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 5F1; VH

<400> 120
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattagta gtggggctag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca 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 25 30

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

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

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

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

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

<210> 122
<211> 324
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 14B3; VL

<400> 122
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 14B3; VH

<400> 124
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attttggcta gtggtgcgat cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 125
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 16F1; VL

<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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 16F1; VL

<400> 126
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 16F1; VH

<400> 128
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcaggt attattggta gtggtggtat cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<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> ADN
<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 tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 16F8; VH

<400> 132
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attcttggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgtc c 351

<210> 133
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> O3C9; 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> O3C9; VL

<400> 134
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 135
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> O3C9; VH

<400> 135

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

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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> O3C9; VH

<400> 136
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttttgcca tgagctgggt ccgtcagtct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggta gtggtagtaa cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> O2D7; VL

<400> 138
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcacccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag caggctatta tgcttcctcc gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<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
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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> O2D7; VH

<400> 140
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 28H1; VL

<400> 142
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc cgcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcatt ggggcctcca ccagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaa 324

<210> 143
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 28H1; VH

<400> 143

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

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

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

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 144
<211> 348
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 28H1; VH

<400> 144
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agtcatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct atttgggcta gtggggagca atactacgca 180

gactccgtga agggccggtt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 240

cagatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gccgtatatt actgtgcgaa agggtggctg 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 22A3; VL

<400> 146
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta tgcttccccc 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 22A3; VH

<400> 148
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggta gtggtagtat cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 29B11; VL

<400> 150
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttacc agtagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcaat gtgggctccc gtagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtatta 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
115

<210> 152
<211> 351
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 29B11; VH

<400> 152
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attattggta gtggtggtat cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 23C10; VL

<400> 154
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc cgcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatcatt ggggcctcca ccagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 23C10; VH

<400> 156
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttctgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtacta atggtaatta tacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca 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

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> ADN
<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 cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac 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 Ser
115 120

<210> 160
<211> 363
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2B10_C3B6; VH

<400> 160
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggagct atcatcccga tccttggtat cgcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 161
<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2B10_6A12; VL

<400> 161

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

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

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

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> ADN
<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 cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2B10_6A12; VH

<400> 164
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctatgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggagtg atcatcccta tccttggtac cgcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<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> ADN
<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 tcgtccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc 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> ADN
<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 actacggtgc 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> ADN
<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 ctaagcgcct gatctatgat gcttacagct tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag 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
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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2B10_D1A2_wt; VH

<400> 172
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 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> ADN
<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 ctgcttgcag aatggtctgc 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
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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2B10_D1A2_VD; VH

<400> 176
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 actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2B10_O7D8; VL

<400> 178
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gagcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gtgtccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 179
<211> 121
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2B10_O7D8; 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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2B10_O7D8; VH

<400> 180
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 actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 181

<211> 107
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2B10_O1F7; VL

<400> 181

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

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

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

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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2B10_O1F7; VL

<400> 182
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gggcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gcgtccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcctgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<210> 183
<211> 121
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2B10_O1F7; VH

<400> 183

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

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

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

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

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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2B10_O1F7; VH

<400> 184
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 actacggtgc 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
100 105

<210> 186
<211> 321
<212> ADN
<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 ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa g 321

<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> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> 2B10_6H10; VH

<400> 188
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 actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tca 363

<210> 189
<211> 122
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> MHLG1; VH

<400> 189

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

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

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

Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Phe Gly Arg Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

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

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

Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His Tyr Phe Asp His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 190

<211> 366
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> MHLG1; VH

<400> 190
gaagtgcagc tggtggagtc tggaggaggc ttggtcaagc ctggcgggtc cctgcggctc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacatttagc aactattgga tgaactgggt gcggcaggct 120

cctggaaagg gcctcgagtg ggtggccgag atcagattga aatccaataa cttcggaaga 180

tattacgctg caagcgtgaa gggccggttc accatcagca gagatgattc caagaacacg 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaagacc gaggatacgg ccgtgtatta ctgtaccaca 300

tacggcaact acgttgggca ctacttcgac cactggggcc aagggaccac cgtcaccgtc 360

tccagt 366

<210> 191
<211> 109
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> KV9; VL

<400> 191

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

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

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

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

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

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

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

<210> 192
<211> 327
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> KV9; VL

<400> 192
gatatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60

atcacctgca aggccagtca gaatgtggat actaacgtgg cttggtacca gcagaagcca 120

gggcaggcac ctaggcctct gatctattcg gcatcctacc ggtacactgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300

ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacg 327

<210> 193
<211> 122
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> MHLG; VH

<400> 193

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

20 25 30

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

Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Phe Gly Arg Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

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

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

Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His Tyr Phe Asp His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 194
<211> 366
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> MHLG; VH

<400> 194
gaagtgcagc tggtggagtc tggaggaggc ttggtccagc ctggcgggtc cctgcggctc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacatttagc aactattgga tgaactgggt gcggcaggct 120

cctggaaagg gcctcgagtg ggtggccgag atcagattga aatccaataa cttcggaaga 180

tattacgctg caagcgtgaa gggccggttc accatcagca gagatgattc caagaacacg 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaagacc gaggatacgg ccgtgtatta ctgtaccaca 300

tacggcaact acgttgggca ctacttcgac cactggggcc aagggaccac cgtcaccgtc 360

tccagt 366

<210> 195
<211> 109
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> KV1; VL

<400> 195

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

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

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

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

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

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

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

<210> 196
<211> 330
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> KV1; VL

<400> 196

gatatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60

atcacctgca gggccagtca gaatgtggat actaacttag cttggtacca gcagaagcca 120

gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gttacactgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300

ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg 330

<210> 197
<211> 109
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> KV7; VL

<400> 197

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

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

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

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

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

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

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

<210> 198
<211> 330
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> KV7; VL

<400> 198
gatatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60

atcacctgca aggccagtca gaatgtggat actaacgtgg cttggtacca gcagaagcca 120

gggaaagcac ctaagcctct gatctattcg gcatcctacc ggtacactgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300

ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg 330

<210> 199
<211> 603
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de L19 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 199

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

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

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

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

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

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

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

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly Gly
210 215 220

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser Ser
225 230 235 240

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
245 250 255

Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr
260 265 270

Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu
275 280 285

Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val
290 295 300

Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
305 310 315 320

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
325 330 335

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
340 345 350

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
355 360 365

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu
370 375 380

Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
385 390 395 400

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Ser
405 410 415

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
420 425 430

Ser Ile Ser Gly Ser Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
435 440 445

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

450 455 460

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
465 470 475 480

Lys Pro Phe Pro Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
485 490 495

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
500 505 510

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
515 520 525

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
530 535 540

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
545 550 555 560

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
565 570 575

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
580 585 590

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600

<210> 200
<211> 1809
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> L19 Fab-IL2 qm-Fab (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 200
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc 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 ctggtcaccg tctcgagtgc tagcaccaag 360

ggcccatcgg tcttcccccc ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 420

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 480

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 540

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 600

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gataagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 660

tccggcggag gagggagcgg cggaggtggc tccggaggtg gcggagcacc tgcctcaagt 720

tctacaaaga aaacacagct acaactggag catttactgc tggatttaca gatgattttg 780

aatggaatta ataattacaa gaatcccaaa ctcaccagga tgctcacagc caagtttgcc 840

atgcccaaga aggccacaga actgaaacat cttcagtgtc tagaagaaga actcaaacct 900

ctggaggaag tgctaaatgg cgctcaaagc aaaaactttc acttaagacc cagggactta 960

atcagcaata tcaacgtaat agttctggaa ctaaagggat ctgaaacaac attcatgtgt 1020

gaatatgctg atgagacagc aaccattgta gaatttctga acagatggat tacctttgcc 1080

caaagcatca tctcaacact gacttccggc ggaggaggat ccggcggagg tggctctggc 1140

ggtggcggag aggtgcagct gttggagtct gggggaggct tggtacagcc tgggggtcc 1200

ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc acctttagca gtttttcgat gagctgggtc 1260

cgccaggctc agggaaggg gctggagtgg gtctcatcta tttccggtag ttcgggtacc 1320

acatactacg cagactccgt gaagggccgg ttcaccatct ccagagacaa ttccaagaac 1380

acgctgtatc tgcaaatgaa cagcctgaga gccgaggaca cggccgtata ttactgtgcg 1440

aaaccgtttc cgtattttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt ctcgagtgct 1500

agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 1560

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 1620

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 1680

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 1740

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg ataagaaagt tgagcccaaa 1800

tcttgtgac 1809

<210> 201
<211> 215
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cadena ligera de L19

<400> 201

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

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

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

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

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

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

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 202
<211> 645
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cadena ligera de L19

<400> 202
gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat tatgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagacgggtc gtattcctcc gacgttcggc 300

caagggacca aggtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 203
<211> 641
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> scFv-IL2 qm-scFv de F16

<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 Arg Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

Thr Val Ser Arg Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu
130 135 140

Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr
145 150 155 160

Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val
165 170 175

Ile Tyr Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
180 185 190

Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln
195 200 205

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Ser Val Tyr Thr Met
210 215 220

Pro Pro Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
225 230 235 240

Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ala Pro
245 250 255

Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu
260 265 270

Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro
275 280 285

Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala
290 295 300

Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu
305 310 315 320

Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro
325 330 335

Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly
340 345 350

Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile
355 360 365

Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser
370 375 380

Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
385 390 395 400

Gly Gly Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asp Pro Ala Val Ser Val Ala Leu
405 410 415

Gly Gln Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr
420 425 430

Tyr Ala Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val
435 440 445

Ile Tyr Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
450 455 460

Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln
465 470 475 480

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Ser Val Tyr Thr Met
485 490 495

Pro Pro Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Ser
500 505 510

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Glu Val
515 520 525

Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
530 535 540

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Gly Met
545 550 555 560

Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala
565 570 575

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
580 585 590

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
595 600 605

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys
610 615 620

Ala His Asn Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
625 630 635 640

Ser

<210> 204
<211> 1923
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> ScFv-IL2 qm-scFv de F16

<400> 204

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc cggtatggta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagcgcat 300

aatgcttttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tgtcgagagg tggaggcggt 360

tcaggcggag gtggctctgg cggtggcgga tcgtctgagc tgactcagga ccctgctgtg 420

tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc acatgccaag gagacagcct cagaagctat 480

tatgcaagct ggtaccagca gaagccagga caggcccctg tacttgtcat ctatggtaaa 540

aacaaccggc cctcagggat cccagaccga ttctctggct ccagctcagg aaacacagct 600

tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa gatgaggctg actattactg taactcctct 660

gtttatacta tgccgcccgt ggtattcggc ggagggacca agctgaccgt cctaggctct 720

tcctcatcgg gtagtagctc ttccggctca tcgtcctccg gagcacctgc ctcaagttct 780

acaaagaaaa cacagctaca actggagcat ttactgctgg atttacagat gattttgaat 840

ggaattaata attacaagaa tcccaaactc accaggatgc tcacagccaa gtttgccatg 900

cccaagaagg ccacagaact gaaacatctt cagtgtctag aagaagaact caaacctctg 960

gaggaagtgc taaatggcgc tcaaagcaaa aactttcact taagacccag ggacttaatc 1020

agcaatatca acgtaatagt tctggaacta aagggatctg aaacaacatt catgtgtgaa 1080

tatgctgatg agacagcaac cattgtagaa tttctgaaca gatggattac ctttgcccaa 1140

agcatcatct caacactgac ttccggcgga ggagggagcg gcggaggtgg ctctggcggt 1200

ggcggatcgt ctgagctcac tcaggaccct gctgtgtctg tggccttggg acagacagtc 1260

aggatcacat gccaaggaga cagcctcaga agctattatg caagctggta ccagcagaag 1320

ccaggacagg cccctgtact tgtcatctat ggtaaaaaca accggccctc agggatccca 1380

gaccgattct ctggctccag ctcaggaaac acagcttcct tgaccatcac tggggctcag 1440

gcggaagatg aggctgacta ttactgtaac tcctctgttt atactatgcc gcccgtggta 1500

ttcggcggag ggaccaagct taccgtacta ggctcaggag gcggttcagg cggaggttct 1560

ggcggcggta gcggatcgga ggtgcagctg ttggagtctg ggggaggctt ggtacagcct 1620

gggggggtccc tgagactctc ctgtgcagcc tctggattca cctttagccg gtatggtatg 1680

agctgggtcc gccaggctcc agggaagggg ctggagtggg tctcagctat tagtggtagt 1740

ggtggtagca catactacgc agactccgtg aagggccggt tcaccatctc cagagacaat 1800

tccaagaaca cgctgtatct gcaaatgaac agcctgagag ccgaggacac ggccgtatat 1860

tactgtgcga aagcgcataa tgcttttgac tactggggcc agggaaccct ggtcaccgtg 1920

tcg 1923

<210> 205
<211> 603
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de F16(constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 205

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

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

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

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

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

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

85 90 95

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

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Ser Ser Ser
210 215 220

Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ala Pro Ala Ser Ser
225 230 235 240

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
245 250 255

Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr
260 265 270

Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu
275 280 285

Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val
290 295 300

Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
305 310 315 320

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
325 330 335

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
340 345 350

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
355 360 365

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu
370 375 380

Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
385 390 395 400

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Gly
405 410 415

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
420 425 430

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
435 440 445

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
450 455 460

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
465 470 475 480

Lys Ala His Asn Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
485 490 495

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
500 505 510

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
515 520 525

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
530 535 540

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
545 550 555 560

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
565 570 575

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
580 585 590

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600

<210> 206
<211> 1809
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de F16(constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 206
gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc cggtatggta tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagcgcat 300

aatgcttttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tgtcgagtgc tagcaccaag 360

ggcccatcgg tcttcccccc ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 420

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 480

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 540

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 600

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gataagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 660

tcttcctcat cgggtagtag ctcttccggc tcatcgtcct ccggagcacc tgcctcaagt 720

tctacaaaga aaacacagct acaactggag catttactgc tggatttaca gatgattttg 780

aatggaatta ataattacaa gaatcccaaa ctcaccagga tgctcacagc caagtttgcc 840

atgcccaaga aggccacaga actgaaacat cttcagtgtc tagaagaaga actcaaacct 900

ctggaggaag tgctaaatgg cgctcaaagc aaaaactttc acttaagacc cagggactta 960

atcagcaata tcaacgtaat agttctggaa ctaaagggat ctgaaacaac attcatgtgt 1020

gaatatgctg atgagacagc aaccattgta gaatttctga acagatggat tacctttgcc 1080

caaagcatca tctcaacact gacttccggc ggaggaggga gcggcggagg tggctctggc 1140

ggtggcggag aggtgcaatt gttggagtct gggggaggct tggtacagcc tgggggtcc 1200

ctgagactct cctgtgcagc ctctggattc acctttagcc ggtatggtat gagctgggtc 1260

cgccaggctc agggaaggg gctggagtgg gtctcagcta ttagtggtag tggtggtagc 1320

acatactacg cagactccgt gaagggccgg ttcaccatct ccagagacaa ttccaagaac 1380

acgctgtatc tgcaaatgaa cagcctgaga gccgaggaca cggccgtata ttactgtgcg 1440

aaagcgcata atgcttttga ctactggggc cagggaaccc tggtcaccgt gtcgagtgct 1500

agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 1560

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 1620

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga 1680

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 1740

atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa 1800

tcttgtgac 1809

<210> 207
<211> 214
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cadena ligera de F16

<400> 207

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

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

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

Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Ser Val Tyr Thr Met Pro Pro
85 90 95

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln
115 120 125

Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly
130 135 140

Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly
145 150 155 160

Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala
165 170 175

Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser
180 185 190

Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val
195 200 205

Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210

<210> 208
<211> 642
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cadena ligera de F16

<400> 208
tcttctgagc tgactcagga ccctgctgtg tctgtggcct tgggacagac agtcaggatc 60

acatgccaag gagacagcct cagaagctat tatgcaagct ggtaccagca gaagccagga 120

caggcccctg tacttgtcat ctatggtaaa aacaaccggc cctcagggat cccagaccga 180

ttctctggct ccagctcagg aaacacagct tccttgacca tcactggggc tcaggcggaa 240

gatgaggctg actattactg taactcctct gtttatacta tgccgcccgt ggtattcggc 300

ggagggacca agctgaccgt cctaggtcaa cccaaggctg cccccagcgt gaccctgttc 360

cccccagca gcgaggaact gcaggccaac aaggccaccc tggtctgcct gatcagcgac 420

ttctacccag gcgccgtgac cgtggcctgg aaggccgaca gcagccccgt gaaggccggc 480

gtggagacca ccacccccag caagcagagc aacaacaagt acgccgccag cagctacctg 540

agcctgaccc ccgagcagtg gaagagccac aggtcctaca gctgccaggt gacccacgag 600

ggcagcaccg tggagaaaac cgtggccccc accgagtgca gc 642

<210> 209
<211> 605
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 3F2(constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 209

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu

325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 210
<211> 1815
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 3F2 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 210
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

tttggtggtt ttaactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt 660

gactccggcg gaggagggag cggcggaggt ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720

agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780

ttgaatggaa ttaataatta caagaatccc aaactcacca ggatgctcac agccaagttt 840

gccatgccca agaaggccac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900

cctctggagg aagtgctaaa tggcgctcaa agcaaaaact ttcacttaag acccagggac 960

ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020

tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080

gcccaaagca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggcgg aggtggctct 1140

ggcggtggcg gagaggtgca attgttggag tctgggggag gcttggtaca gcctgggggg 1200

tccctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcaccttta gcagttatgc catgagctgg 1260

gtccgccagg ctccagggaa ggggctggag tgggtctcag ctattagtgg tagtggtggt 1320

agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380

aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acacggccgt atattactgt 1440

gcgaaagggt ggtttggtgg ttttaactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500

agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 1560

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1680

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 1800

cccaaatctt gtgac 1815

<210> 211
<211> 605
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 4G8 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 211

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 212
<211> 1815
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 4G8 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 212
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt 660

gactccggcg gaggagggag cggcggaggt ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720

agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780

ttgaatggaa ttaataatta caagaatccc aaactcacca ggatgctcac agccaagttt 840

gccatgccca agaaggccac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900

cctctggagg aagtgctaaa tggcgctcaa agcaaaaact ttcacttaag acccagggac 960

ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020

tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080

gcccaaagca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggcgg aggtggctct 1140

ggcggtggcg gagaggtgca attgttggag tctgggggag gcttggtaca gcctgggggg 1200

tccctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcaccttta gcagttatgc catgagctgg 1260

gtccgccagg ctccagggaa ggggctggag tgggtctcag ctattagtgg tagtggtggt 1320

agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380

aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acacggccgt atattactgt 1440

gcgaaagggt ggctgggtaa ttttgactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500

agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 1560

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1680

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 1800

cccaaatctt gtgac 1815

<210> 213
<211> 605
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 3D9 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 213

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Gly Val Ser Thr Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 214
<211> 1815
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 3D9 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 214
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcta tgagctgggt ccgccagact 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attggtgtta gtactggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaggttgg 300

ctgggtcctt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt 660

gactccggcg gaggagggag cggcggaggt ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720

agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780

ttgaatggaa ttaataatta caagaatccc aaactcacca ggatgctcac agccaagttt 840

gccatgccca agaaggccac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900

cctctggagg aagtgctaaa tggcgctcaa agcaaaaact ttcacttaag acccagggac 960

ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020

tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080

gcccaaagca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggcgg aggtggctct 1140

ggcggtggcg gagaggtgca attgttggag tctgggggag gcttggtaca gcctgggggg 1200

tccctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcaccttta gcagttatgc tatgagctgg 1260

gtccgccaga ctccagggaa ggggctggag tgggtctcag ctattggtgt tagtactggt 1320

agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380

aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acacggccgt atattactgt 1440

gcgaaaggtt ggctgggtcc ttttgactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500

agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 1560

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1680

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 1800

cccaaatctt gtgac 1815

<210> 215
<211> 605
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 2F11 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 215

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu

260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Trp Arg Trp Met Met Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 216
<211> 1815
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 2F11 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 216
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac accgccgtat attactgtgc gaaatggaga 300

tggatgatgt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt 660

gactccggcg gaggagggag cggcggaggt ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720

agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780

ttgaatggaa ttaataatta caagaatccc aaactcacca ggatgctcac agccaagttt 840

gccatgccca agaaggccac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900

cctctggagg aagtgctaaa tggcgctcaa agcaaaaact ttcacttaag acccagggac 960

ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020

tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080

gcccaaagca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggcgg aggtggctct 1140

ggcggtggcg gagaggtgca attgttggag tctgggggag gcttggtaca gcctgggggg 1200

tccctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcaccttta gcagttatgc catgagctgg 1260

gtccgccagg ctccagggaa ggggctggag tgggtctcag ctattagtgg tagtggtggt 1320

agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380

aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acaccgccgt atattactgt 1440

gcgaaatgga gatggatgat gtttgactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500

agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 1560

ggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1680

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 1800

cccaaatctt gtgac 1815

<210> 217
<211> 605
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 4B3 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 217

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu

500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 218
<211> 1815
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 4B3 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 218
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480

ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac 540

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggataaga aagttgagcc caaatcttgt 660

gactccggcg gaggagggag cggcggaggt ggctccggag gtggcggagc acctgcctca 720

agttctacaa agaaaacaca gctacaactg gagcatttac tgctggattt acagatgatt 780

ttgaatggaa ttaataatta caagaatccc aaactcacca ggatgctcac agccaagttt 840

gccatgccca agaaggccac agaactgaaa catcttcagt gtctagaaga agaactcaaa 900

cctctggagg aagtgctaaa tggcgctcaa agcaaaaact ttcacttaag acccagggac 960

ttaatcagca atatcaacgt aatagttctg gaactaaagg gatctgaaac aacattcatg 1020

tgtgaatatg ctgatgagac agcaaccatt gtagaatttc tgaacagatg gattaccttt 1080

gcccaaagca tcatctcaac actgacttcc ggcggaggag gatccggcgg aggtggctct 1140

ggcggtggcg gagaggtgca attgttggag tctgggggag gcttggtaca gcctgggggg 1200

tccctgagac tctcctgtgc agcctccgga ttcaccttta gcagttatgc catgagctgg 1260

gtccgccagg ctccagggaa ggggctggag tgggtctcag ctattagtgg tagtggtggt 1320

agcacatact acgcagactc cgtgaagggc cggttcacca tctccagaga caattccaag 1380

aacacgctgt atctgcagat gaacagcctg agagccgagg acacggccgt atattactgt 1440

gcgaaagggt ggctgggtaa ttttgactac tggggccaag gaaccctggt caccgtctcg 1500

agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 1560

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 1620

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 1680

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 1800

cccaaatctt gtgac 1815

<210> 219
<211> 603
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 28H1(constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 219

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

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

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

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly Gly
210 215 220

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser Ser
225 230 235 240

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
245 250 255

Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr
260 265 270

Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu
275 280 285

Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val
290 295 300

Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
305 310 315 320

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
325 330 335

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
340 345 350

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
355 360 365

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu
370 375 380

Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
385 390 395 400

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Ala
405 410 415

Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
420 425 430

Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
435 440 445

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
450 455 460

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys
465 470 475 480

Gly Trp Leu Gly Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
485 490 495

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
500 505 510

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
515 520 525

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
530 535 540

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
545 550 555 560

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
565 570 575

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
580 585 590

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600

<210> 220
<211> 1809
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 28H1 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 220
gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

tcctgcgccg cctccggctt caccttctcc tcccacgcca tgtcctgggt ccgacaggct 120

cctggcaaag gcctggaatg ggtgtccgcc atctgggcct ccggcgagca gtactacgcc 180

gactctgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg 240

cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccaa gggctggctg 300

ggcaacttcg actactgggg acagggcacc ctggtcaccg tgtccagcgc tagcaccaag 360

ggaccctccg tgttccccct ggccccctcc agcaagtcta cctctggcgg caccgccgct 420

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gagcccgtga ccgtgtcctg gaactctggc 480

gccctgacca gcggcgtcca cacctttcca gccgtgctgc agtcctccgg cctgtactcc 540

ctgtcctccg tcgtgaccgt gccctccagc tctctgggca cccagaccta catctgcaac 600

gtgaaccaca agccctccaa caccaaggtg gacaagaagg tggaacccaa gtcctgcgac 660

agtggtgggg gaggatctgg tggcggaggt tctggcggag gtggcgctcc tgcctcctcc 720

agcaccaaga aaacccagct ccagctggaa catctcctgc tggatctgca gatgatcctg 780

aacggcatca acaactacaa gaaccccaag ctgacccgga tgctgaccgc caagttcgcc 840

atgcccaaga aggccaccga gctgaaacat ctgcagtgcc tggaagagga actgaagcct 900

ctggaagagg tgctgaacgg cgcccagtcc aagaacttcc acctgaggcc tcgggacctg 960

atctccaaca tcaacgtgat cgtgctggaa ctgaagggct ccgagacaac cttcatgtgc 1020

gagtacgccg acgagacagc taccatcgtg gaatttctga accggtggat caccttcgcc 1080

cagtccatca tctccaccct gacctccggt ggtggcggat ccgggggagg gggttctggc 1140

ggaggcggag aagtgcagct gctggaatcc ggcggaggcc tggtgcagcc tggcggatct 1200

ctgagactgt cctgcgccgc ctccggcttc accttctcct cccacgccat gtcctgggtc 1260

cgacaggctc caggcaaggg cctggaatgg gtgtccgcca tctgggcctc cggcgagcag 1320

tactacgccg actctgtgaa gggccggttc accatctccc gggacaactc caagaacacc 1380

ctgtacctgc agatgaactc cctgcgggcc gaggacaccg ccgtgtacta ctgtgccaag 1440

ggctggctgg gcaacttcga ctactggggc cagggcaccc tggtcaccgt gtcctccgcc 1500

tctaccaagg gcccctccgt gttccctctg gcccccctcca gcaagtctac ctctggcggc 1560

accgccgctc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg 1620

aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctgca gtcctccggc 1680

ctgtactccc tgtcctccgt cgtgaccgtg ccctccagct ctctgggcac ccagacctac 1740

atctgcaacg tgaaccacaa gccctccaac accaaggtgg acaagaaggt ggaacccaag 1800

tcctgcgac 1809

<210> 221
<211> 605
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 29B11(constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 221

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 222
<211> 1815
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 29B11 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 222
gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

tcctgcgccg cctccggctt caccttctcc tcctacgcca tgtcctgggt ccgacaggct 120

cctggcaaag gcctggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ccggcggcat cacctactac 180

gccgactctg tgaagggccg gttcaccatc tcccgggaca actccaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgtgc caagggctgg 300

ttcggaggct tcaactactg gggacagggc accctggtca ccgtgtccag cgctagcacc 360

aagggaccct ccgtgttccc cctggccccc tccagcaagt ctacctctgg cggcaccgcc 420

gctctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaactct 480

ggcgccctga ccagcggcgt ccacaccttt ccagccgtgc tgcagtcctc cggcctgtac 540

tccctgtcct ccgtcgtgac cgtgccctcc agctctctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagccctc caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagtcctgc 660

gacagtggtg ggggaggatc tggtggcgga ggttctggcg gaggtggcgc tcctgcctcc 720

tccagcacca agaaaaccca gctccagctg gaacatctcc tgctggatct gcagatgatc 780

ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgaccc ggatgctgac cgccaagttc 840

gccatgccca agaaggccac cgagctgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag 900

cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag tccaagaact tccacctgag gcctcgggac 960

ctgatctcca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gctccgagac aaccttcatg 1020

tgcgagtacg ccgacgagac agctaccatc gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc 1080

gcccagtcca tcatctccac cctgacctcc ggtggtggcg gatccggggg aggggttct 1140

ggcggaggcg gagaagtgca gctgctggaa tccggcggag gcctggtgca gcctggcgga 1200

tctctgagac tgtcctgcgc cgcctccggc ttcaccttct cctcctatgc catgtcctgg 1260

gtccgacagg ctccaggcaa gggcctggaa tgggtgtccg ccatcatcgg ctccggcggc 1320

atcacctact acgccgactc tgtgaagggc cggttcacca tctcccggga caactccaag 1380

aacaccctgt acctgcagat gaactccctg cgggccgagg acaccgccgt gtactactgt 1440

gccaagggct ggttcggagg cttcaactac tggggccagg gcaccctggt caccgtgtcc 1500

tccgcctcta ccaagggccc ctccgtgttc cctctggccc cctccagcaa gtctacctct 1560

ggcggcaccg ccgctctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgagcc cgtgaccgtg 1620

tcctggaact ctggcgccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagtcc 1680

tccggcctgt actccctgtc ctccgtcgtg accgtgccct ccagctctct gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc tccaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 1800

cccaagtcct gcgac 1815

<210> 223
<211> 605
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 19G1 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 223

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Ile Ser Ser Gly Gly Leu Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 224

<211> 1815
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 19G1 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 224
gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcagct ctggcggcct gacctactac 180

gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300

ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctggtca cagtgtccag cgctagcacc 360

aagggaccca gcgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc 420

gccctgggct gcctggtcaa agactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480

ggagccctga ccagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 540

agcctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc tctagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagagctgc 660

gactccggcg gaggcggatc tggcggtgga ggctccggag gcggaggcgc tcctgccagc 720

agctccacca agaaaaccca gctccagctg gaacatctgc tgctggatct gcagatgatc 780

ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgaccc ggatgctgac cgccaagttc 840

gccatgccca agaaggccac cgaactgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag 900

cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag agcaagaact tccacctgag gcccagggac 960

ctgatcagca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gcagcgagac aaccttcatg 1020

tgcgagtacg ccgacgagac agccaccatc gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc 1080

gcccagagca tcatcagcac cctgacaagc ggaggcggcg gatccggcgg aggcggatct 1140

ggcggaggag gcgaggtcca gctgctcgaa agcggcggag gactggtgca gcctggcggc 1200

agcctgagac tgtcttgcgc cgccagcggc ttcaccttca gcagctacgc catgagctgg 1260

gtccgccagg cccctggcaa gggactggaa tgggtgtccg ccatcatcag ctctggcggc 1320

ctgacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga caacagcaag 1380

aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactactgc 1440

gccaagggat ggttcggcgg cttcaactac tggggacagg gcaccctggt cacagtgtcc 1500

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcacatct 1560

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 1620

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 1680

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc accgtgccta gctctagcct gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 1800

cccaagagct gcgac 1815

<210> 225
<211> 605
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 20G8 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 225

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ser Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

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

450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 226
<211> 1815
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 20G8 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 226

gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcagccg gacctactac 180

gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300

ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctggtca cagtgtccag cgctagcacc 360

aagggaccca gcgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc 420

gccctgggct gcctggtcaa agactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480

ggagccctga ccagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 540

agcctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc tctagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagagctgc 660

gactccggcg gaggcggatc tggcggtgga ggctccggag gcggaggcgc tcctgccagc 720

agctccacca agaaaaccca gctccagctg gaacatctgc tgctggatct gcagatgatc 780

ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgaccc ggatgctgac cgccaagttc 840

gccatgccca agaaggccac cgaactgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag 900

cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag agcaagaact tccacctgag gcccagggac 960

ctgatcagca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gcagcgagac aaccttcatg 1020

tgcgagtacg ccgacgagac agccaccatc gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc 1080

gcccagagca tcatcagcac cctgacaagc ggaggcggcg gatccggcgg aggcggatct 1140

ggcggaggag gcgaggtcca gctgctcgaa agcggcggag gactggtgca gcctggcggc 1200

agcctgagac tgtcttgcgc cgccagcggc ttcaccttca gcagctacgc catgagctgg 1260

gtccgccagg cccctggcaa gggactggaa tgggtgtccg ccatcatcgg ctctggcagc 1320

cggacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga caacagcaag 1380

aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactactgc 1440

gccaagggat ggttcggcgg cttcaactac tggggacagg gcaccctggt cacagtgtcc 1500

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcacatct 1560

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 1620

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 1680

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc accgtgccta gctctagcct gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 1800

cccaagagct gcgac 1815

<210> 227
<211> 605
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 4B9 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 227

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Ile Gly Ser Gly Ala Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 228
<211> 1815
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 4B9 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 228
gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcgccag cacctactac 180

gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300

ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctggtca cagtgtccag cgctagcacc 360

aagggaccca gcgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc 420

gccctgggct gcctggtcaa agactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480

ggagccctga ccagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 540

agcctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc tctagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagagctgc 660

gactccggcg gaggcggatc tggcggtgga ggctccggag gcggaggcgc tcctgccagc 720

agctccacca agaaaaccca gctccagctg gaacatctgc tgctggatct gcagatgatc 780

ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgaccc ggatgctgac cgccaagttc 840

gccatgccca agaaggccac cgaactgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag 900

cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag agcaagaact tccacctgag gcccagggac 960

ctgatcagca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gcagcgagac aaccttcatg 1020

tgcgagtacg ccgacgagac agccaccatc gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc 1080

gcccagagca tcatcagcac cctgacaagc ggaggcggcg gatccggcgg aggcggatct 1140

ggcggaggag gcgaggtcca gctgctcgaa agcggcggag gactggtgca gcctggcggc 1200

agcctgagac tgtcttgcgc cgccagcggc ttcaccttca gcagctacgc catgagctgg 1260

gtccgccagg cccctggcaa gggactggaa tgggtgtccg ccatcatcgg ctctggcgcc 1320

agcacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga caacagcaag 1380

aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactactgc 1440

gccaagggat ggttcggcgg cttcaactac tggggacagg gcaccctggt cacagtgtcc 1500

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcacatct 1560

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 1620

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 1680

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc accgtgccta gctctagcct gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 1800

cccaagagct gcgac 1815

<210> 229
<211> 605
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 14B3 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 229

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Ser Gly Gly
210 215 220

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Pro Ala Ser
225 230 235 240

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
245 250 255

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
260 265 270

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
275 280 285

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
290 295 300

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
305 310 315 320

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
325 330 335

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
340 345 350

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
355 360 365

Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
385 390 395 400

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
405 410 415

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
420 425 430

Ser Ala Ile Leu Ala Ser Gly Ala Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
435 440 445

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
450 455 460

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
465 470 475 480

Ala Lys Gly Trp Phe Gly Gly Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
485 490 495

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
500 505 510

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
515 520 525

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

530 535 540

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
545 550 555 560

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
565 570 575

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
580 585 590

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
595 600 605

<210> 230
<211> 1815
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 14B3 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 230
gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcctggcct ctggcgccat cacctactac 180

gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300

ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctggtca cagtgtccag cgctagcacc 360

aagggaccca gcgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcacatctgg cggaacagcc 420

gccctgggct gcctggtcaa agactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480

ggagccctga ccagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 540

agcctgagca gcgtggtcac cgtgcctagc tctagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggaacc caagagctgc 660

gactccggcg gaggcggatc tggcggtgga ggctccggag gcggaggcgc tcctgccagc 720

agctccacca agaaaaccca gctccagctg gaacatctgc tgctggatct gcagatgatc 780

ctgaacggca tcaacaacta caagaacccc aagctgaccc ggatgctgac cgccaagttc 840

gccatgccca agaaggccac cgaactgaaa catctgcagt gcctggaaga ggaactgaag 900

cctctggaag aggtgctgaa cggcgcccag agcaagaact tccacctgag gcccagggac 960

ctgatcagca acatcaacgt gatcgtgctg gaactgaagg gcagcgagac aaccttcatg 1020

tgcgagtacg ccgacgagac agccaccatc gtggaatttc tgaaccggtg gatcaccttc 1080

gcccagagca tcatcagcac cctgacaagc ggaggcggcg gatccggcgg aggcggatct 1140

ggcggaggag gcgaggtcca gctgctcgaa agcggcggag gactggtgca gcctggcggc 1200

agcctgagac tgtcttgcgc cgccagcggc ttcaccttca gcagctacgc catgagctgg 1260

gtccgccagg cccctggcaa gggactggaa tgggtgtccg ccatcctggc ctctggcgcc 1320

atcacctact acgccgacag cgtgaagggc cggttcacca tcagccggga caacagcaag 1380

aacaccctgt acctgcagat gaacagcctg cgggccgagg acaccgccgt gtactactgc 1440

gccaagggat ggttcggcgg cttcaactac tggggacagg gcaccctggt cacagtgtcc 1500

agcgccagca ccaagggccc cagcgtgttc cccctggccc ccagcagcaa gagcacatct 1560

ggcggaacag ccgccctggg ctgcctggtc aaagactact tccccgagcc cgtgaccgtg 1620

tcctggaaca gcggagccct gaccagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 1680

agcggcctgt acagcctgag cagcgtggtc accgtgccta gctctagcct gggcacccag 1740

acctacatct gcaacgtgaa ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaggtggaa 1800

cccaagagct gcgac 1815

<210> 231
<211> 215
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de 3F2

<400> 231

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

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

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

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

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

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

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 232
<211> 645
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de 3F2

<400> 232
gagatcgtgc tgacccagtc ccccggcacc ctgtctctga gccctggcga gagagccacc 60

ctgtcctgca gagcctccca gtccgtgacc tcctcctacc tcgcctggta tcagcagaag 120

cccggccagg cccctcggct gctgatcaac gtgggcagtc ggagagccac cggcatccct 180

gaccggttct ccggctctgg ctccggcacc gacttcaccc tgaccatctc ccggctggaa 240

cccgaggact tcgccgtgta ctactgccag cagggcatca tgctgccccc cacctttggc 300

cagggcacca aggtggaaat caagcgtacg gtggccgctc cctccgtgtt catcttccca 360

ccctccgacg agcagctgaa gtccggcacc gcctccgtcg tgtgcctgct gaacaacttc 420

taccccgcg aggccaaggt gcagtggaag gtggacaacg ccctgcagtc cggcaactcc 480

caggaatccg tcaccgagca ggactccaag gacagcacct actccctgtc ctccaccctg 540

accctgtcca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgcgaagt gacccaccag 600

ggcctgtcca gccccgtgac caagtccttc aaccggggcg agtgc 645

<210> 233
<211> 215
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera 4G8

<400> 233

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

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

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

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

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

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

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 234
<211> 645
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de 4G8

<400> 234
gagatcgtgc tgacccagtc ccccggcacc ctgtctctga gccctggcga gagagccacc 60

ctgtcctgca gagcctccca gtccgtgtcc cggtcctacc tcgcctggta tcagcagaag 120

cccggccagg cccctcggct gctgatcatc ggcgcctcta ccagagccac cggcatccct 180

gaccggttct ccggctctgg ctccggcacc gacttcaccc tgaccatctc ccggctggaa 240

cccgaggact tcgccgtgta ctactgccag cagggccagg tcatccctcc cacctttggc 300

cagggcacca aggtggaaat caagcgtacg gtggccgctc cctccgtgtt catcttccca 360

ccctccgacg agcagctgaa gtccggcacc gcctccgtcg tgtgcctgct gaacaacttc 420

taccccgcg aggccaaggt gcagtggaag gtggacaacg ccctgcagtc cggcaactcc 480

caggaatccg tcaccgagca ggactccaag gacagcacct actccctgtc ctccaccctg 540

accctgtcca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgcgaagt gacccaccag 600

ggcctgtcca gccccgtgac caagtccttc aaccggggcg agtgc 645

<210> 235
<211> 215
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de 3D9

<400> 235

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

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

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

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

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

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

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

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> 236
<211> 645
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de 3D9

<400> 236
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagc ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 237
<211> 215
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de 2F11

<400> 237

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

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

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

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

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

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

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
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> 238
<211> 645
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de 2F11

<400> 238
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagt atactccccc cacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 239
<211> 215
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de 4B3

<400> 239

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

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

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

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

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

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

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 240
<211> 645
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de 4B3

<400> 240
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcaattact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggcgcctaca tcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagggtcagg ttattccccc tacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 241
<211> 613
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Fab-IL2 qm-Fab de 2B10 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 241

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

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

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

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

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

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

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

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

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

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
245 250 255

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys
275 280 285

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
290 295 300

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
305 310 315 320

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
325 330 335

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
340 345 350

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
355 360 365

Ile Ser Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

370 375 380

Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
385 390 395 400

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr
405 410 415

Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
420 425 430

Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr
435 440 445

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr
450 455 460

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
465 470 475 480

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe
485 490 495

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
500 505 510

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
515 520 525

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
530 535 540

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
545 550 555 560

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
565 570 575

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
580 585 590

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
595 600 605

Pro Lys Ser Cys Asp
610

<210> 242
<211> 1839
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 2B10 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 242
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 actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tcagctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 660

cccaaatctt gtgactccgg cggaggaggg agcggcggag gtggctccgg aggtggcgga 720

gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 780

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 840

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 900

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 960

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 1020

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 1080

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgactt ccggcggagg aggatccggc 1140

ggaggtggct ctggcggtgg cggacaggtg caattggtgc agtctggggc tgaggtgaag 1200

aagcctgggt cctcggtgaa ggtctcctgc aaggcctccg gaggcacatt cagcagctac 1260

gctataagct gggtgcgaca ggcccctgga caagggctcg agtggatggg agggatcatc 1320

cctatctttg gtacagcaaa ctacgcacag aagttccagg gcagggtcac cattactgca 1380

gacaaatcca cgagcacagc ctacatggag ctgagcagcc tgagatctga ggacaccgcc 1440

gtgtattact gtgcgagact gtacggttac gcttactacg gtgcttttga ctactggggc 1500

caagggacca ccgtgaccgt ctcctcagct agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg 1560

gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac 1620

tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac 1680

accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg 1740

ccctccagca gcttgggcac ccagacctac atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac 1800

accaaggtgg ataagaaagt tgagcccaaa tcttgtgac 1839

<210> 243
<211> 613
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de C3B6 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 243

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

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

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
245 250 255

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys
275 280 285

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
290 295 300

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
305 310 315 320

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
325 330 335

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
340 345 350

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
355 360 365

Ile Ser Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
370 375 380

Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
385 390 395 400

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr
405 410 415

Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
420 425 430

Leu Glu Trp Met Gly Ala Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr
435 440 445

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr
450 455 460

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
465 470 475 480

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe
485 490 495

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
500 505 510

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
515 520 525

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
530 535 540

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
545 550 555 560

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
565 570 575

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
580 585 590

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
595 600 605

Pro Lys Ser Cys Asp
610

<210> 244
<211> 1839
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de C3B6 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 244
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctacgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggagct atcatcccga tccttggtat cgcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tcagctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 660

cccaaatctt gtgactccgg cggaggaggg agcggcggag gtggctccgg aggtggcgga 720

gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 780

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 840

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 900

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 960

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 1020

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 1080

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgactt ccggcggagg aggatccggc 1140

ggaggtggct ctggcggtgg cggacaggtg caattggtgc agtctggggc tgaggtgaag 1200

aagcctgggt cctcggtgaa ggtctcctgc aaggcctccg gaggcacatt cagcagctac 1260

gctataagct gggtgcgaca ggcccctgga caagggctcg agtggatggg agctatcatc 1320

ccgatccttg gtatcgcaaa ctacgcacag aagttccagg gcagggtcac cattactgca 1380

gacaaatcca cgagcacagc ctacatggag ctgagcagcc tgagatctga ggacaccgcc 1440

gtgtattact gtgcgagact gtacggttac gcttactacg gtgcttttga ctactggggc 1500

caagggacca ccgtgaccgt ctcctcagct agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg 1560

gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac 1620

tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac 1680

accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg 1740

ccctccagca gcttgggcac ccagacctac atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac 1800

accaaggtgg ataagaaagt tgagcccaaa tcttgtgac 1839

<210> 245
<211> 613
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 6A12 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 245

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

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

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

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

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

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

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

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

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

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
225 230 235 240

Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His
245 250 255

Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys
275 280 285

Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys
290 295 300

Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu
305 310 315 320

Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu
325 330 335

Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala
340 345 350

Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile
355 360 365

Ile Ser Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
370 375 380

Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
385 390 395 400

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr
405 410 415

Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
420 425 430

Leu Glu Trp Met Gly Val Ile Ile Pro Ile Leu Gly Thr Ala Asn Tyr
435 440 445

Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr
450 455 460

Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala
465 470 475 480

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Leu Tyr Gly Tyr Ala Tyr Tyr Gly Ala Phe
485 490 495

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
500 505 510

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
515 520 525

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
530 535 540

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
545 550 555 560

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
565 570 575

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
580 585 590

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
595 600 605

Pro Lys Ser Cys Asp

610

<210> 246
<211> 1839
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de 6A12 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 246
caggtgcaat tggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcctc ggtgaaggtc 60

tcctgcaagg cctccggagg cacattcagc agctatgcta taagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggctcgagtg gatgggagtg atcatcccta tccttggtac cgcaaactac 180

gcacagaagt tccagggcag ggtcaccatt actgcagaca aatccacgag cacagcctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac accgccgtgt attactgtgc gagactgtac 300

ggttacgctt actacggtgc ttttgactac tggggccaag ggaccaccgt gaccgtctcc 360

tcagctagca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 420

gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 540

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 600

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggataa gaaagttgag 660

cccaaatctt gtgactccgg cggaggaggg agcggcggag gtggctccgg aggtggcgga 720

gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 780

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 840

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 900

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta atggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 960

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 1020

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 1080

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgactt ccggcggagg aggatccggc 1140

ggaggtggct ctggcggtgg cggacaggtg caattggtgc agtctggggc tgaggtgaag 1200

aagcctgggt cctcggtgaa ggtctcctgc aaggcctccg gaggcacatt cagcagctat 1260

gctataagct gggtgcgaca ggcccctgga caagggctcg agtggatggg agtgatcatc 1320

cctatccttg gtaccgcaaa ctacgcacag aagttccagg gcagggtcac cattactgca 1380

gacaaatcca cgagcacagc ctacatggag ctgagcagcc tgagatctga ggacaccgcc 1440

gtgtattact gtgcgagact gtacggttac gcttactacg gtgcttttga ctactggggc 1500

caagggacca ccgtgaccgt ctcctcagct agcaccaagg gcccatcggt cttccccctg 1560

gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac 1620

tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac 1680

accttcccgg ctgtcctaca gtcctcagga ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg 1740

ccctccagca gcttgggcac ccagacctac atctgcaacg tgaatcacaa gcccagcaac 1800

accaaggtgg ataagaaagt tgagcccaaa tcttgtgac 1839

<210> 247
<211> 214
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de 2B10

<400> 247

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 248
<211> 642
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de 2B10

<400> 248
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 249
<211> 214
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de D1A2

<400> 249

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
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> 250
<211> 642
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de D1A2

<400> 250
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 ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 251
<211> 214
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de O7D8

<400> 251

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 252
<211> 642
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de O7D8

<400> 252
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtcggaga ccgggtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gagcattcgt aatgttttag gctggtacca gcagaagcca 120

gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgat gtgtccagtt tgcagagtgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc cgggacagag ttcactctca ccatcagcag cttgcagcct 240

gaagattttg ccacctatta ctgcttgcag aatggtctgc agcccgcgac gtttggccag 300

ggcaccaaag tcgagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 253
<211> 615
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de MHLG1 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 253

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

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

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

Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Phe Gly Arg Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

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

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

Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His Tyr Phe Asp His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

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

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
225 230 235 240

Gly Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
245 250 255

His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr
260 265 270

Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro
275 280 285

Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu
290 295 300

Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
305 310 315 320

Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
325 330 335

Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
340 345 350

Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser
355 360 365

Ile Ile Ser Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
385 390 395 400

Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
405 410 415

Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
420 425 430

Gly Leu Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Phe Gly

435 440 445

Arg Tyr Tyr Ala Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
450 455 460

Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu
465 470 475 480

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His
485 490 495

Tyr Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
500 505 510

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
515 520 525

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
530 535 540

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
545 550 555 560

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
565 570 575

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
580 585 590

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
595 600 605

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
610 615

<210> 254
<211> 1845

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de MHLG1 (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 254
gaagtgcagc tggtggagtc tggaggaggc ttggtcaagc ctggcgggtc cctgcggctc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacatttagc aactattgga tgaactgggt gcggcaggct 120

cctggaaagg gcctcgagtg ggtggccgag atcagattga aatccaataa cttcggaaga 180

tattacgctg caagcgtgaa gggccggttc accatcagca gagatgattc caagaacacg 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaagacc gaggatacgg ccgtgtatta ctgtaccaca 300

tacggcaact acgttgggca ctacttcgac cactggggcc aagggaccac cgtcaccgtc 360

tccagtgcta gcaccaaggg cccatcggtc ttcccctgg caccctcctc caagagcacc 420

tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 540

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 600

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga taagaaagtt 660

gagcccaaat cttgtgactc cggcggagga gggagcggcg gaggtggctc cggaggtggc 720

ggagcacctg cctcaagttc tacaaagaaa acacagctac aactggagca tttactgctg 780

gatttacaga tgattttgaa tggaattaat aattacaaga atcccaaact caccaggatg 840

ctcacagcca agtttgccat gcccaagaag gccacagaac tgaaacatct tcagtgtcta 900

gaagaagaac tcaaacctct ggaggaagtg ctaaatggcg ctcaaagcaa aaactttcac 960

ttaagaccca gggacttaat cagcaatatc aacgtaatag ttctggaact aaagggatct 1020

gaaacaacat tcatgtgtga atatgctgat gagacagcaa ccattgtaga atttctgaac 1080

agatggatta cctttgccca aagcatcatc tcaacactga cttccggcgg aggaggatcc 1140

ggcggaggtg gctctggcgg tggcggagaa gtgcagctgg tggagtctgg aggaggcttg 1200

gtcaagcctg gcgggtccct gcggctctcc tgtgcagcct ccggattcac atttagcaac 1260

tattggatga actgggtgcg gcaggctcct ggaaagggcc tcgagtgggt ggccgagatc 1320

agattgaaat ccaataactt cggaagatat tacgctgcaa gcgtgaaggg ccggttcacc 1380

atcagcagag atgattccaa gaacacgctg tacctgcaga tgaacagcct gaagaccgag 1440

gatacggccg tgtattactg taccacatac ggcaactacg ttgggcacta cttcgaccac 1500

tggggccaag ggaccaccgt caccgtctcc agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc 1560

cccctggcac cctcctccaa gagcacctct gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc 1620

aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc 1680

gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc tcaggactct actccctcag cagcgtggtg 1740

accgtgccct ccagcagctt gggcacccag acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc 1800

agcaacacca aggtggataa gaaagttgag cccaaatctt gtgac 1845

<210> 255
<211> 214
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de KV9

<400> 255

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

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

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 256
<211> 642
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de KV9

<400> 256
gatatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60

atcacctgca aggccagtca gaatgtggat actaacgtgg cttggtacca gcagaagcca 120

gggcaggcac ctaggcctct gatctattcg gcatcctacc ggtacactgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300

ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 257
<211> 615
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab-IL2 qm-Fab de MHLG (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 257

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

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

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

Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Phe Gly Arg Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

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

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

Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His Tyr Phe Asp His Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

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

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
225 230 235 240

Gly Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu
245 250 255

His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr

260 265 270

Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro
275 280 285

Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu
290 295 300

Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His
305 310 315 320

Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu
325 330 335

Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr
340 345 350

Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser
355 360 365

Ile Ile Ser Thr Leu Thr Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
370 375 380

Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
385 390 395 400

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
405 410 415

Thr Phe Ser Asn Tyr Trp Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
420 425 430

Gly Leu Glu Trp Val Ala Glu Ile Arg Leu Lys Ser Asn Asn Phe Gly
435 440 445

Arg Tyr Tyr Ala Ala Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
450 455 460

Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu
465 470 475 480

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Tyr Gly Asn Tyr Val Gly His
485 490 495

Tyr Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
500 505 510

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
515 520 525

Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe
530 535 540

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
545 550 555 560

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
565 570 575

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
580 585 590

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
595 600 605

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
610 615

<210> 258
<211> 1845
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Fab-IL2 qm-Fab de MHLG (constructo de fusión de cadena pesada-citoquina)

<400> 258

gaagtgcagc tggtggagtc tggaggaggc ttggtccagc ctggcgggtc cctgcggctc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacatttagc aactattgga tgaactgggt gcggcaggct 120

cctggaaagg gcctcgagtg ggtggccgag atcagattga aatccaataa cttcggaaga 180

tattacgctg caagcgtgaa gggccggttc accatcagca gagatgattc caagaacacg 240

ctgtacctgc agatgaacag cctgaagacc gaggatacgg ccgtgtatta ctgtaccaca 300

tacggcaact acgttgggca ctacttcgac cactggggcc aagggaccac cgtcaccgtc 360

tccagtgcta gcaccaaggg cccatcggtc ttcccctgg caccctcctc caagagcacc 420

tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480

gtgtcgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggcgtgcaca ccttcccggc tgtcctacag 540

tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 600

cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga taagaaagtt 660

gagcccaaat cttgtgactc cggcggagga gggagcggcg gaggtggctc cggaggtggc 720

ggagcacctg cctcaagttc tacaaagaaa acacagctac aactggagca tttactgctg 780

gatttacaga tgattttgaa tggaattaat aattacaaga atcccaaact caccaggatg 840

ctcacagcca agtttgccat gcccaagaag gccacagaac tgaaacatct tcagtgtcta 900

gaagaagaac tcaaacctct ggaggaagtg ctaaatggcg ctcaaagcaa aaactttcac 960

ttaagaccca gggacttaat cagcaatatc aacgtaatag ttctggaact aaagggatct 1020

gaaacaacat tcatgtgtga atatgctgat gagacagcaa ccattgtaga atttctgaac 1080

agatggatta cctttgccca aagcatcatc tcaacactga cttccggcgg aggaggatcc 1140

ggcggaggtg gctctggcgg tggcggagaa gtgcagctgg tggagtctgg aggaggcttg 1200

gtccagcctg gcgggtccct gcggctctcc tgtgcagcct ccggattcac atttagcaac 1260

tattggatga actgggtgcg gcaggctcct ggaaagggcc tcgagtgggt ggccgagatc 1320

agattgaaat ccaataactt cggaagatat tacgctgcaa gcgtgaaggg ccggttcacc 1380

atcagcagag atgattccaa gaacacgctg tacctgcaga tgaacagcct gaagaccgag 1440

gatacggccg tgtattactg taccacatac ggcaactacg ttgggcacta cttcgaccac 1500

tggggccaag ggaccaccgt caccgtctcc agtgctagca ccaagggccc atcggtcttc 1560

cccctggcac cctcctccaa gagcacctct gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc 1620

aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc 1680

gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc tcaggactct actccctcag cagcgtggtg 1740

accgtgccct ccagcagctt gggcacccag acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc 1800

agcaacacca aggtggataa gaaagttgag cccaaatctt gtgac 1845

<210> 259
<211> 214
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de KV1

<400> 259

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 260
<211> 642
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de KV1

<400> 260
gatatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60

atcacctgca gggccagtca gaatgtggat actaacttag cttggtacca gcagaagcca 120

gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gttacactgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300

ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 261
<211> 214
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de KV7

<400> 261

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 262
<211> 642
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de KV7

<400> 262
gatatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtgggcga ccgggtcacc 60

atcacctgca aggccagtca gaatgtggat actaacgtgg cttggtacca gcagaagcca 120

gggaaagcac ctaagcctct gatctattcg gcatcctacc ggtacactgg cgtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc cgggacagag ttcactctca caatctcaag cctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaacag tacaatagtt accctctgac gttcggcgga 300

ggtaccaagg tggagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 263
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> secuencia líder

<400> 263

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly
1 5 10 15

Ala His Ser

<210> 264
<211> 57
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> secuencia líder

<400> 264
atggactgga cctggagaat cctcttcttg gtggcagcag ccacaggagc ccactcc 57

<210> 265

<211> 57
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> secuencia líder

<400> 265
atggactgga cctggaggat cctcttcttg gtggcagcag ccacaggagc ccactcc 57

<210> 266
<211> 22
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> secuencia líder

<400> 266

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> 267
<211> 66
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> secuencia líder

<400> 267
atggacatga gggtccccgc tcagctcctg ggcctcctgc tgctctggtt cccaggtgcc 60

aggtgt 66

<210> 268
<211> 19
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> secuencia líder

<400> 268

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser

<210> 269
<211> 57
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> secuencia líder

<400> 269
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattcc 57

<210> 270
<211> 57
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> secuencia líder

<400> 270
atgggctggt cctgcatcat cctgtttctg gtggctaccg ccactggagt gcattcc 57

<210> 271
<211> 57
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> secuencia líder

<400> 271
atgggctggt cctgcatcat cctgtttctg gtcgccacag ccaccggcgt gcactct 57

<210> 272

<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> secuencia líder

<400> 272

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
1 5 10 15

Val Thr Asn Ser
20

<210> 273
<211> 60
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> secuencia líder

<400> 273
atgtacagga tgcaactcct gtcttgcatt gcactaagtc ttgcacttgt cacaaacagt 60

<210> 274
<211> 466
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> proteína de fusión IL-2R-beta-Fc(ojal) humana

<400> 274

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys Ala Val Asn Gly Thr Ser Gln Phe Thr Cys
20 25 30

Phe Tyr Asn Ser Arg Ala Asn Ile Ser Cys Val Trp Ser Gln Asp Gly
35 40 45

Ala Leu Gln Asp Thr Ser Cys Gln Val His Ala Trp Pro Asp Arg Arg
50 55 60

Arg Trp Asn Gln Thr Cys Glu Leu Leu Pro Val Ser Gln Ala Ser Trp
65 70 75 80

Ala Cys Asn Leu Ile Leu Gly Ala Pro Asp Ser Gln Lys Leu Thr Thr
85 90 95

Val Asp Ile Val Thr Leu Arg Val Leu Cys Arg Glu Gly Val Arg Trp
100 105 110

Arg Val Met Ala Ile Gln Asp Phe Lys Pro Phe Glu Asn Leu Arg Leu
115 120 125

Met Ala Pro Ile Ser Leu Gln Val Val His Val Glu Thr His Arg Cys
130 135 140

Asn Ile Ser Trp Glu Ile Ser Gln Ala Ser His Tyr Phe Glu Arg His
145 150 155 160

Leu Glu Phe Glu Ala Arg Thr Leu Ser Pro Gly His Thr Trp Glu Glu
165 170 175

Ala Pro Leu Leu Thr Leu Lys Gln Lys Gln Glu Trp Ile Cys Leu Glu
180 185 190

Thr Leu Thr Pro Asp Thr Gln Tyr Glu Phe Gln Val Arg Val Lys Pro
195 200 205

Leu Gln Gly Glu Phe Thr Thr Trp Ser Pro Trp Ser Gln Pro Leu Ala
210 215 220

Phe Arg Thr Lys Pro Ala Ala Leu Gly Lys Asp Thr Gly Ala Gln Asp
225 230 235 240

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
245 250 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
260 265 270

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
275 280 285

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
290 295 300

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
305 310 315 320

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
325 330 335

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
340 345 350

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys
355 360 365

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380

Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
385 390 395 400

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
405 410 415

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
420 425 430

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
435 440 445

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455 460

Gly Lys
465

<210> 275
<211> 1401
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> proteína de fusión IL-2R-beta-Fc(ojal) humana

<400> 275
atggacatga gggtccccgc tcagctcctg ggcctcctgc tgctctggtt cccaggtgcc 60

aggtgtgcgg tgaatggcac ttcccagttc acatgcttct acaactcgag agccaacatc 120

tcctgtgtct ggagccaaga tggggctctg caggacactt cctgccaagt ccatgcctgg 180

ccggacagac ggcggtggaa ccaaacctgt gagctgctcc ccgtgagtca agcatcctgg 240

gcctgcaacc tgatcctcgg agccccagat tctcagaaac tgaccacagt tgacatcgtc 300

accctgaggg tgctgtgccg tgaggggtg cgatggaggg tgatggccat ccaggacttc 360

aagcccttg 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 tgcgggtcaa gcctctgcaa ggcgagttca cgacctggag cccctggagc 660

cagcccctgg ccttcagaac aaagcctgca gcccttggga aggacaccgg agctcaggac 720

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaactcc tgggggggacc gtcagtcttc 780

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 840

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 900

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 960

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1020

aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1080

cagccccgag aaccacaggt gtgcaccctg cccccatccc gggatgagct gaccaagaac 1140

caggtcagcc tctcgtgcgc agtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1200

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1260

ggctccttct tcctcgtgag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1320

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1380

tccctgtctc cgggtaaatg a 1401

<210> 276
<211> 492
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> proteína de fusión IL-2R-gamma-Fc(botón) humana

<400> 276

Met Leu Lys Pro Ser Leu Pro Phe Thr Ser Leu Leu Phe Leu Gln Leu
1 5 10 15

Pro Leu Leu Gly Val Gly Leu Asn Thr Thr Ile Leu Thr Pro Asn Gly
20 25 30

Asn Glu Asp Thr Thr Ala Asp Phe Phe Leu Thr Thr Met Pro Thr Asp
35 40 45

Ser Leu Ser Val Ser Thr Leu Pro Leu Pro Glu Val Gln Cys Phe Val
50 55 60

Phe Asn Val Glu Tyr Met Asn Cys Thr Trp Asn Ser Ser Ser Glu Pro
65 70 75 80

Gln Pro Thr Asn Leu Thr Leu His Tyr Trp Tyr Lys Asn Ser Asp Asn
85 90 95

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

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg
385 390 395 400

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly
405 410 415

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
420 425 430

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
435 440 445

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
450 455 460

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
465 470 475 480

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490

<210> 277
<211> 1479
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína de fusión IL-2R-gamma-Fc(botón) humana

<400> 277
atgttgaagc catcattacc attcacatcc ctcttattcc tgcagctgcc cctgctggga 60

gtggggctga acacgacaat tctgacgccc aatgggaatg aagacaccac agctgatttc 120

ttcctgacca ctatgcccac tgactccctc agtgtttcca ctctgcccct cccagaggtt 180

cagtgttttg tgttcaatgt cgagtacatg aattgcactt ggaacagcag ctctgagccc 240

cagcctacca acctcactct gcattattgg tacaagaact cggataatga taaagtccag 300

aagtgcagcc actatctatt ctctgaagaa atcacttctg gctgtcagtt gcaaaaaaag 360

gagatccacc tctaccaaac atttgttgtt cagctccagg acccacggga acccaggaga 420

caggccacac agatgctaaa actgcagaat ctggtgatcc cctgggctcc agagaaccta 480

acacttcaca aactgagtga atcccagcta gaactgaact ggaacaacag attcttgaac 540

cactgtttgg agcacttggt gcagtaccgg actgactggg accacagctg gactgaacaa 600

tcagtggatt atagacataa gttctccttg cctagtgtgg atgggcagaa acgctacacg 660

tttcgtgttc ggagccgctt taacccactc 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

aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 1020

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 1080

ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 1140

atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatgccgg 1200

gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg tggtgcctgg 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 ggtaaatga 1479

<210> 278
<211> 219
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> subunidad alfa de IL-2R humana + Etiqueta Avi + Etiqueta His

<400> 278

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Glu Ile Pro His Ala
20 25 30

Thr Phe Lys Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu
35 40 45

Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Leu Tyr Met Leu
50 55 60

Cys Thr Gly Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys
65 70 75 80

Thr Ser Ser Ala Thr Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro
85 90 95

Glu Glu Gln Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Pro Met Gln
100 105 110

Pro Val Asp Gln Ala Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro
115 120 125

Trp Glu Asn Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln
130 135 140

Met Val Tyr Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly
145 150 155 160

Pro Ala Glu Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr
165 170 175

Gln Pro Gln Leu Ile Cys Thr Gly Val Asp Glu Gln Leu Tyr Phe Gln
180 185 190

Gly Gly Ser Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp
195 200 205

His Glu Ala Arg Ala His His His His His His
210 215

<210> 279
<211> 660
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Subunidad alfa de IL-2R humana+ Etiqueta Avi + Etiqueta His

<400> 279
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt 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 caagtgacac ctcaacctga agaacagaaa 300

gaaaggaaaa ccacagaaat gcaaagtcca atgcagccag tggaccaagc gagccttcca 360

ggtcactgca gggaacctcc accatgggaa aatgaagcca cagagagaat ttatcatttc 420

gtggtggggc agatggttta ttatcagtgc gtccagggat acagggctct acacagaggt 480

cctgctgaga gcgtctgcaa aatgacccac gggaagacaa ggtggaccca gccccagctc 540

atatgcacag gtgtcgacga acagttatat tttcagggcg gctcaggcct gaacgacatc 600

ttcgaggccc agaagatcga gtggcacgag gctcgagctc accaccatca ccatcactga 660

<210> 280
<211> 473
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína de fusión IL-2R-beta-Fc(ojal) murina

<400> 280

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Leu Leu Leu Leu Trp Phe Pro Gly Ala Arg Cys Ala Val Lys
20 25 30

Asn Cys Ser His Leu Glu Cys Phe Tyr Asn Ser Arg Ala Asn Val Ser
35 40 45

Cys Met Trp Ser His Glu Glu Ala Leu Asn Val Thr Thr Cys His Val
50 55 60

His Ala Lys Ser Asn Leu Arg His Trp Asn Lys Thr Cys Glu Leu Thr
65 70 75 80

Leu Val Arg Gln Ala Ser Trp Ala Cys Asn Leu Ile Leu Gly Ser Phe
85 90 95

Pro Glu Ser Gln Ser Leu Thr Ser Val Asp Leu Leu Asp Ile Asn Val
100 105 110

Val Cys Trp Glu Glu Lys Gly Trp Arg Arg Val Lys Thr Cys Asp Phe
115 120 125

His Pro Phe Asp Asn Leu Arg Leu Val Ala Pro His Ser Leu Gln Val
130 135 140

Leu His Ile Asp Thr Gln Arg Cys Asn Ile Ser Trp Lys Val Ser Gln
145 150 155 160

Val Ser His Tyr Ile Glu Pro Tyr Leu Glu Phe Glu Ala Arg Arg Arg
165 170 175

Leu Leu Gly His Ser Trp Glu Asp Ala Ser Val Leu Ser Leu Lys Gln
180 185 190

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> 281
<211> 1422
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína de fusión IL-2R-beta-Fc(ojal) murina

<400> 281
atggacatga gggtccccgc tcagctcctg ggcctcctgc tgctctggtt 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 ctgatcctcg ggtcgttccc agagtcccag 300

tcactgacct ccgtggacct ccttgacata aatgtggtgt gctgggaaga gaagggttgg 360

cgtagggtaa agacctgcga cttccatccc tttgacaacc ttcgcctggt ggcccctcat 420

tccctccaag ttctgcacat tgatacccag agatgtaaca taagctggaa ggtctcccag 480

gtctctcact acattgaacc atacttggaa tttgaggccc gtagacgtct tctgggccac 540

agctgggagg atgcatccgt attaagcctc aagcagagac agcagtggct cttcttggag 600

atgctgatcc ctagtacctc atatgaggtc caggtgaggg tcaaagctca acgaaacaat 660

accgggacct ggagtccctg gagccagccc ctgacctttc ggacaaggcc agcagatccc 720

atgaaggagg gagctcagga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc 780

ctgggggggac cgtcagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc 840

cggacccctg aggtcacatg cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtcaag 900

ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 960

cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg 1020

aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 1080

accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtgcaccct gcccccatcc 1140

cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctctcgtgcg cagtcaaagg cttctatccc 1200

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg 1260

cctcccgtgc tggactccga cggctccttc ttcctcgtga gcaagctcac cgtggacaag 1320

agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac 1380

cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaat ga 1422

<210> 282
<211> 500
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína de fusión IL-2R-gamma-Fc(botón) murina

<400> 282

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15

Phe Pro Leu Leu Leu Leu Trp Phe Pro Gly Ala Arg Cys Trp Ser Ser
20 25 30

Lys Val Leu Met Ser Ser Ala Asn Glu Asp Ile Lys Ala Asp Leu Ile
35 40 45

Leu Thr Ser Thr Ala Pro Glu His Leu Ser Ala Pro Thr Leu Pro Leu
50 55 60

Pro Glu Val Gln Cys Phe Val Phe Asn Ile Glu Tyr Met Asn Cys Thr
65 70 75 80

Trp Asn Ser Ser Ser Glu Pro Gln Ala Thr Asn Leu Thr Leu His Tyr
85 90 95

Arg Tyr Lys Val Ser Asp Asn Asn Thr Phe Gln Glu Cys Ser His Tyr
100 105 110

Leu Phe Ser Lys Glu Ile Thr Ser Gly Cys Gln Ile Gln Lys Glu Asp
115 120 125

Ile Gln Leu Tyr Gln Thr Phe Val Val Gln Leu Gln Asp Pro Gln Lys
130 135 140

Pro Gln Arg Arg Ala Val Gln Lys Leu Asn Leu Gln Asn Leu Val Ile
145 150 155 160

Pro Arg Ala Pro Glu Asn Leu Thr Leu Ser Asn Leu Ser Glu Ser Gln
165 170 175

Leu Glu Leu Arg Trp Lys Ser Arg His Ile Lys Glu Arg Cys Leu Gln
180 185 190

Tyr Leu Val Gln Tyr Arg Ser Asn Arg Asp Arg Ser Trp Thr Glu Leu
195 200 205

Ile Val Asn His Glu Pro Arg Phe Ser Leu Pro Ser Val Asp Glu Leu
210 215 220

Lys Arg Tyr Thr Phe Arg Val Arg Ser Arg Tyr Asn Pro Ile Cys Gly
225 230 235 240

Ser Ser Gln Gln Trp Ser Lys Trp Ser Gln Pro Val His Trp Gly Ser
245 250 255

His Thr Val Glu Glu Asn Pro Ser Leu Phe Ala Leu Glu Ala Gly Ala
260 265 270

Gln Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
275 280 285

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
290 295 300

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

305 310 315 320

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
325 330 335

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
340 345 350

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
355 360 365

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
370 375 380

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
385 390 395 400

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
405 410 415

Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
420 425 430

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
435 440 445

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
450 455 460

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
465 470 475 480

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
485 490 495

Ser Pro Gly Lys
500

<210> 283
<211> 1503
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína de fusión IL-2R-gamma-Fc(botón) murina

<400> 283
atggacatga gggtccccgc tcagctcctg ggcctcctgc tgctctggtt ccccctcctg 60

ctgctctggt tcccaggtgc caggtgttgg agttccaagg tcctcatgtc cagtgcgaat 120

gaagacatca aagctgattt gatcctgact tctacagccc ctgaacacct cagtgctcct 180

actctgcccc ttccagaggt tcagtgcttt gtgttcaaca tagagtacat gaattgcact 240

tggaatagca gttctgagcc tcaggcaacc aacctcacgc tgcactatag gtacaaggta 300

tctgataata atacattcca ggagtgcagt cactatttgt tctccaaaga gattacttct 360

ggctgtcaga tacaaaaaga agatatccag ctctaccaga catttgttgt ccagctccag 420

gacccccaga aaccccagag gcgagctgta cagaagctaa acctacagaa tcttgtgatc 480

ccacgggctc cagaaaatct aacactcagc aatctgagtg aatcccagct agagctgaga 540

tggaaaagca gacatattaa agaacgctgt ttacaatact tggtgcagta ccggagcaac 600

agagatcgaa gctggacgga actaatagtg aatcatgaac ctagattctc cctgcctagt 660

gtggatgagc tgaaacggta cacatttcgg gttcggagcc gctataaccc aatctgtgga 720

agttctcaac agtggagtaa atggagccag cctgtccact gggggagtca tactgtagag 780

gagaatcctt ccttgtttgc actggaagct ggagctcagg acaaaactca cacatgccca 840

ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc 900

aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc 960

cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc 1020

aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc 1080

gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc 1140

ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag 1200

gtgtacaccc tgcccccatg ccgggatgag ctgaccaaga accaggtcag cctgtggtgc 1260

ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg 1320

gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg ctggactccg acggctcctt cttcctctac 1380

agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg 1440

atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 1500

tga 1503

<210> 284
<211> 213
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Subunidad alfa de IL-2R murina + Etiqueta Avi + Etiqueta His

<400> 284

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser Glu Leu Cys Leu Tyr Asp Pro Pro Glu Val Pro Asn Ala
20 25 30

Thr Phe Lys Ala Leu Ser Tyr Lys Asn Gly Thr Ile Leu Asn Cys Glu
35 40 45

Cys Lys Arg Gly Phe Arg Arg Leu Lys Glu Leu Val Tyr Met Arg Cys
50 55 60

Leu Gly Asn Ser Trp Ser Ser Asn Cys Gln Cys Thr Ser Asn Ser His
65 70 75 80

Asp Lys Ser Arg Lys Gln Val Thr Ala Gln Leu Glu His Gln Lys Glu
85 90 95

Gln Gln Thr Thr Thr Asp Met Gln Lys Pro Thr Gln Ser Met His Gln
100 105 110

Glu Asn Leu Thr Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Lys His Glu
115 120 125

Asp Ser Lys Arg Ile Tyr His Phe Val Glu Gly Gln Ser Val His Tyr
130 135 140

Glu Cys Ile Pro Gly Tyr Lys Ala Leu Gln Arg Gly Pro Ala Ile Ser
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> 285
<211> 642
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Subunidad alfa de IL-2R murina + Etiqueta Avi + Etiqueta His

<400> 285
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgaa 60

ctgtgtctgt atgacccacc cgaggtcccc aatgccacat tcaaagccct ctcctacaag 120

aacggcacca tcctaaactg tgaatgcaag agaggtttcc gaagactaaa ggaattggtc 180

tatatgcgtt gcttaggaaa ctcctggagc agcaactgcc agtgcaccag caactcccat 240

gacaaatcga gaaagcaagt tacagctcaa cttgaacacc agaaagagca acaaaccaca 300

acagacatgc agaagccaac acagtctatg caccaagaga accttacagg tcactgcagg 360

gagccacctc cttggaaaca tgaagattcc 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 aggctcgagc tcaccaccat caccatcact ga 642

<210> 286
<211> 480
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína de fusión IL-2R-beta-Fc(botón) de mono Cynomolgus + Etiqueta Avi

<400> 286

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
145 150 155 160

Glu Ala Arg Thr Leu Ser Pro Gly His Thr Trp Glu Glu Ala Pro Leu
165 170 175

Met Thr Leu Lys Gln Lys Gln Glu Trp Ile Cys Leu Glu Thr Leu Thr
180 185 190

Pro Asp Thr Gln Tyr Glu Phe Gln Val Arg Val Lys Pro Leu Gln Gly
195 200 205

Glu Phe Thr Thr Trp Ser Pro Trp Ser Gln Pro Leu Ala Phe Arg Thr
210 215 220

Lys Pro Ala Ala Leu Gly Lys Asp Thr Gly Ala Gln Asp Lys Thr His
225 230 235 240

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
245 250 255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
260 265 270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
275 280 285

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
290 295 300

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
305 310 315 320

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
325 330 335

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
340 345 350

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
355 360 365

Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
370 375 380

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
385 390 395 400

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
405 410 415

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
420 425 430

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser
450 455 460

Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
465 470 475 480

<210> 287

<211> 1443
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína de fusión IL-2R-beta-Fc(botón) de mono Cynomolgus + Etiqueta Avi

<400> 287
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccgcg 60

gtcaacggca cttcccggtt cacatgcttc tacaactcga gagccaacat ctcctgtgtc 120

tggagccaag atggggctct gcaggacact tcctgccaag tccacgcctg gccggacaga 180

cggcggtgga accaaacctg tgagctgctc cctgtgagtc aagcatcctg ggcctgcaac 240

ctgatcctcg gaaccccaga ttctcagaaa ctgaccgcag tggatatcgt caccctgagg 300

gtgatgtgcc gtgaaggggt gcgatggagg atgatggcca tccaggactt caaacccttt 360

gagaaccttc gcctgatggc ccccatctcc ctccaagtcg tccacgtgga gacccacaga 420

tgcaacataa gctggaaaat ctcccaagcc tcccactact ttgaaagaca cctggagttt 480

gaggcccgga cgctgtcccc aggccacacc tgggaggagg ccccctgat gaccctcaag 540

cagaagcagg aatggatctg cctggagacg ctcaccccag acacccagta tgagtttcag 600

gtgcgggtca agcctctgca aggcgagttc acgacctgga gcccctggag ccagcccctg 660

gccttcagga caaagcctgc agcccttggg aaggacaccg gagctcagga caaaactcac 720

acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc ctgggggggac cgtcagtctt cctcttcccc 780

ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc cggacccctg aggtcacatg cgtggtggtg 840

gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtcaag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg 900

cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc 960

gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc 1020

aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg gcagccccga 1080

gaaccacagg tgtacaccct gcccccatgc cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc 1140

ctgtggtgcc tggtcaaagg cttctatccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat 1200

gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga cggctccttc 1260

ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca 1320

tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct ctccctgtct 1380

ccgggtaaat ccggaggcct gaacgacatc ttcgaggccc agaagattga atggcacgag 1440

tga 1443

<210> 288
<211> 489
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína de fusión IL-2R-gamma-Fc(ojal) de mono Cynomolgus

<400> 288

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

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
370 375 380

Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
385 390 395 400

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
405 410 415

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
420 425 430

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
435 440 445

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
450 455 460

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
465 470 475 480

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485

<210> 289
<211> 1470

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Proteína de fusión IL-2R-gamma-Fc(ojal) de mono Cynomolgus

<400> 289
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtgt gcattccctg 60

aacacgacaa ttctgacgcc caatgggaat gaagacgcca caactgattt cttcctgacc 120

tctatgccca 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 cgtttgttgt 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 gtttcgtgtc 660

cggagccgct ttaacccact ctgtggaagt gctcagcatt ggagtgaatg gagccaccca 720

atccactggg ggagcaatag ttcaaaagag aatcctttcc tgtttgcatt ggaagccgga 780

gctcaggaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct gggggggaccg 840

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccg gacccctgag 900

gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 960

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 1020

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 1080

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa 1140

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tgcaccctgc ccccatcccg 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> 290
<211> 217
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Subunidad alfa de IL-2R de mono Cynomolgus + Etiqueta Avi + Etiqueta His

<400> 290

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15

Glu Leu Cys Asp Asp Asp Pro Pro Lys Ile Thr His Ala Thr Phe Lys
20 25 30

Ala Met Ala Tyr Lys Glu Gly Thr Met Leu Asn Cys Glu Cys Lys Arg
35 40 45

Gly Phe Arg Arg Ile Lys Ser Gly Ser Pro Tyr Met Leu Cys Thr Gly
50 55 60

Asn Ser Ser His Ser Ser Trp Asp Asn Gln Cys Gln Cys Thr Ser Ser
65 70 75 80

Ala Ala Arg Asn Thr Thr Lys Gln Val Thr Pro Gln Pro Glu Glu Gln
85 90 95

Lys Glu Arg Lys Thr Thr Glu Met Gln Ser Gln Met Gln Leu Ala Asp
100 105 110

Gln Val Ser Leu Pro Gly His Cys Arg Glu Pro Pro Pro Trp Glu Asn
115 120 125

Glu Ala Thr Glu Arg Ile Tyr His Phe Val Val Gly Gln Thr Val Tyr
130 135 140

Tyr Gln Cys Val Gln Gly Tyr Arg Ala Leu His Arg Gly Pro Ala Glu
145 150 155 160

Ser Val Cys Lys Met Thr His Gly Lys Thr Arg Trp Thr Gln Pro Gln
165 170 175

Leu Ile Cys Thr Gly Glu Val Asp Glu Gln Leu Tyr Phe Gln Gly Gly
180 185 190

Ser Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
195 200 205

Ala Arg Ala His His His His His His
210 215

<210> 291
<211> 654
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Subunidad alfa de IL-2R de mono Cynomolgus + Etiqueta Avi + Etiqueta His

<400> 291
atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggtga gctctgtgac 60

gatgacccgc caaaaatcac acatgccaca ttcaaagcca tggcctacaa ggaaggaacc 120

atgttgaact gtgaatgcaa gagaggtttc cgcagaataa aaagcgggtc accctatatg 180

ctctgtacag gaaactctag ccactcgtcc 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 actaccagtg cgtccaggga tacagggctc tacacagagg tcctgctgag 480

agcgtctgca aaatgaccca cgggaagaca agatggaccc agccccagct catatgcaca 540

ggtgaagtcg acgaacagtt atattttcag ggcggctcag gcctgaacga catcttcgag 600

gcccagaaga tcgagtggca cgaggctcga gctcaccacc atcaccatca ctga 654

<210> 292
<211> 399
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> IL-2 de tipo salvaje (C125A) (4)

<400> 292
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 293
<211> 399
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> IL-2 mutante L72G (C125A) (4)

<400> 293
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acatttaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 294
<211> 399
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> IL-2 mutante L72G / F42A (C125A) (4)

<400> 294
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acagccaagt tttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 295
<211> 399
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> IL-2 triple mutante F42A / Y45A / L72G (C125A) (4)

<400> 295
gcacctactt caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 296
<211> 399
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> IL-2 mutante cuádruple T3A / F42A /Y45A /L72G (C125A) (4)

<400> 296
gcacctgcct caagttctac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat 60

ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc 120

acagccaagt ttgccatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa 180

gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta atggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 240

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 300

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 360

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 399

<210> 297
<211> 593
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de 28H1-Fc (botón)-IL-2 qm

<400> 297

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

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

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

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

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 Gly
435 440 445

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser
450 455 460

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp
465 470 475 480

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu
485 490 495

Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
500 505 510

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
515 520 525

Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
530 535 540

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
545 550 555 560

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
565 570 575

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
580 585 590

Thr

<210> 298
<211> 1779
<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de 28H1 -Fc (botón)-IL-2 qm

<400> 298
gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

tcctgcgccg cctccggctt caccttctcc tcccacgcca tgtcctgggt ccgacaggct 120

cctggcaaag gcctggaatg ggtgtccgcc atctgggcct ccggcgagca gtactacgcc 180

gactctgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg 240

cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccaa gggctggctg 300

ggcaacttcg actactgggg acagggcacc ctggtcaccg tgtccagcgc tagcaccaag 360

ggcccatcgg tcttcccccc ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 420

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 480

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 540

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 600

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 660

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg caggggggacc gtcagtcttc 720

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 780

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 840

gtggaggtgc 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 aggtggctcc 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 atggcgctc aaagcaaaaa ctttcactta 1620

agacccaggg acttaatcag caatatcaac gtaatagttc tggaactaaa gggatctgaa 1680

acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga 1740

tggattacct ttgcccaaag catcatctca acactgact 1779

<210> 299
<211> 446
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de 28H1-Fc (ojal)

<400> 299

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

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

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

Ser Ala Ile Trp Ala Ser Gly Glu Gln Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

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

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

85 90 95

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

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 300
<211> 1338
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de 28H1-Fc (ojal)

<400> 300
gaagtgcagc tgctggaatc cggcggaggc ctggtgcagc ctggcggatc tctgagactg 60

tcctgcgccg cctccggctt caccttctcc tcccacgcca tgtcctgggt ccgacaggct 120

cctggcaaag gcctggaatg ggtgtccgcc atctgggcct ccggcgagca gtactacgcc 180

gactctgtga agggccggtt caccatctcc cgggacaact ccaagaacac cctgtacctg 240

cagatgaact ccctgcgggc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccaa gggctggctg 300

ggcaacttcg actactgggg acagggcacc ctggtcaccg tgtccagcgc tagcaccaag 360

ggcccctccg tgttccccct ggccccccagc agcaagagca ccagcggcgg cacagccgct 420

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gagcccgtga ccgtgtcctg gaacagcgga 480

gccctgacct ccggcgtgca caccttcccc gccgtgctgc agagttctgg cctgtatagc 540

ctgagcagcg tggtcaccgt gccttctagc agcctgggca cccagaccta catctgcaac 600

gtgaaccaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaagg tggagcccaa gagctgcgac 660

aaaactcaca catgcccacc gtgcccagca cctgaagctg caggggggacc gtcagtcttc 720

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 780

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 840

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 900

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 960

aaggtctcca acaaagccct cggcgccccc 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

tccctgtctc cgggtaaa 1338

<210> 301
<211> 594
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de 4B9-Fc (botón)-IL-2 qm

<400> 301

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala
450 455 460

Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu
465 470 475 480

Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys
485 490 495

Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr
500 505 510

Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu
515 520 525

Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg
530 535 540

Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser

545 550 555 560

Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val
565 570 575

Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr
580 585 590

Leu Thr

<210> 302
<211> 1782
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de 4B9-Fc(botón)-IL-2 qm

<400> 302
gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcgccag cacctactac 180

gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300

ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctggtca cagtgtccag cgctagcacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc 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 accgtgccca 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

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat gccgggatga gctgaccaag 1080

aaccaggtca gcctgtggtg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200

gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320

ctctccctgt ctccgggtgg cggcggaggc tccggaggcg gaggttctgg cggaggtggc 1380

tccgcacctg cctcaagttc tacaaagaaa acacagctac aactggagca tttactgctg 1440

gatttacaga tgattttgaa tggaattaat aattacaaga atcccaaact caccaggatg 1500

ctcacagcca agtttgccat gcccaagaag gccacagaac tgaaacatct tcagtgtcta 1560

gaagaagaac tcaaacctct ggaggaagtg ctaaatggcg ctcaaagcaa aaactttcac 1620

ttaagaccca gggacttaat cagcaatatc aacgtaatag ttctggaact aaagggatct 1680

gaaacaacat tcatgtgtga atatgctgat gagacagcaa ccattgtaga atttctgaac 1740

agatggatta cctttgccca aagcatcatc tcaacactga ct 1782

<210> 303
<211> 447
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de 4B9-Fc (ojal)

<400> 303

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

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

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

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

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

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 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> 304
<211> 1341
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de 4B9-Fc(ojal)

<400> 304
gaggtgcagc tgctcgaaag cggcggagga ctggtgcagc ctggcggcag cctgagactg 60

tcttgcgccg ccagcggctt caccttcagc agctacgcca tgagctgggt ccgccaggcc 120

cctggcaagg gactggaatg ggtgtccgcc atcatcggct ctggcgccag cacctactac 180

gccgacagcg tgaagggccg gttcaccatc agccgggaca acagcaagaa caccctgtac 240

ctgcagatga acagcctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcgc caagggatgg 300

ttcggcggct tcaactactg gggacagggc accctggtca cagtgtccag cgctagcacc 360

aagggcccct ccgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc 420

gctctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480

ggagccctga cctccggcgt gcacaccttc cccgccgtgc tgcagagttc tggcctgtat 540

agcctgagca gcgtggtcac cgtgccttct agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc caagagctgc 660

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca 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

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag 1080

aaccaggtca gcctctcgtg cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200

gacggctcct tcttcctcgt gagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320

ctctccctgt ctccgggtaa a 1341

<210> 305
<211> 592
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de DP47GS-Fc(botón)-IL-2 qm

<400> 305

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

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 Gly Ser Ala Pro Ala Ser Ser
450 455 460

Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu
465 470 475 480

Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr
485 490 495

Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu
500 505 510

Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val
515 520 525

Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu
530 535 540

Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr
545 550 555 560

Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe
565 570 575

Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
580 585 590

<210> 306
<211> 1776
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de DP47GS-Fc(botón)-IL-2 qm

<400> 306
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca 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 cgagtgctag caccaagggc 360

ccatcggtct tccccctggc accctcctcc aagagcacct ctgggggcac agcggccctg 420

ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc 480

ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct gtcctacagt cctcaggact ctactccctc 540

agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 600

aatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaagttg agcccaaatc ttgtgacaaa 660

actcacacat gcccaccgtg cccagcacct gaagctgcag ggggaccgtc agtcttcctc 720

ttcccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg 780

gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 840

gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg 900

gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag 960

gtctccaaca aagccctcgg cgcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 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

ctgtctccgg gtggcggcgg aggctccgga ggcggaggtt ctggcggagg tggctccgca 1380

cctgcctcaa gttctacaaa gaaaacacag ctacaactgg agcatttact gctggattta 1440

cagatgattt tgaatggaat taataattac aagaatccca aactcaccag gatgctcaca 1500

gccaagtttg ccatgcccaa gaaggccaca gaactgaaac atcttcagtg tctagaagaa 1560

gaactcaaac ctctggagga agtgctaaat ggcgctcaaa gcaaaaactt tcacttaaga 1620

cccagggact taatcagcaa tatcaacgta atagttctgg aactaaaggg atctgaaaca 1680

acattcatgt gtgaatatgc tgatgagaca gcaaccattg tagaatttct gaacagatgg 1740

attacctttg cccaaagcat catctcaaca ctgact 1776

<210> 307
<211> 445
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de DP47GS-Fc(ojal)

<400> 307

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
115 120 125

Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
130 135 140

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
165 170 175

Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
180 185 190

Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
195 200 205

Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350

Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys
355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 308
<211> 1335
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de DP47GS-Fc(ojal)

<400> 308
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca 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 cgagtgctag caccaagggc 360

ccctccgtgt tcccctggc ccccagcagc aagagcacca gcggcggcac agccgctctg 420

ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgag cccgtgaccg tgtcctggaa cagcggagcc 480

ctgacctccg gcgtgcacac cttccccgcc gtgctgcaga gttctggcct gtatagcctg 540

agcagcgtgg tcaccgtgcc ttctagcagc ctgggcaccc agacctacat ctgcaacgtg 600

aaccacaagc ccagcaacac caaggtggac aagaaggtgg agcccaagag ctgcgacaaa 660

actcacacat gcccaccgtg cccagcacct gaagctgcag ggggaccgtc agtcttcctc 720

ttccccccaa aacccaagga caccctcatg atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg 780

gtggtggacg tgagccacga agaccctgag gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg 840

gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg 900

gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag 960

gtctccaaca aagccctcgg cgcccccatc gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag 1020

ccccgagaac cacaggtgtg caccctgccc ccatcccggg 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 gagcctctcc 1320

ctgtctccgg gtaaa 1335

<210> 309
<211> 215
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de DP47GS

<400> 309

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 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> 310
<211> 645
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de DP47GS

<400> 310
gaaatcgtgt taacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcttgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggagcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg atccgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgta ttactgtcag cagtatggta gctcaccgct gacgttcggc 300

caggggacca aagtggaaat caaacgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact gcctctgttg tgtgcctgct gaataacttc 420

tatcccagag aggccaaagt acagtggaag gtggataacg ccctccaatc gggtaactcc 480

caggagagtg tcacagagca ggacagcaag gacagcacct acagcctcag cagcaccctg 540

acgctgagca aagcagacta cgagaaacac aaagtctacg cctgcgaagt cacccatcag 600

ggcctgagct cgcccgtcac aaagagcttc aacaggggag agtgt 645

<210> 311
<211> 108
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CH1A1A; VL

<400> 311

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr
20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 312
<211> 324
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CH1A1A; VL

<400> 312
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60

atcacttgca aggccagtgc ggctgtgggt acgtatgttg cgtggtatca gcagaaacca 120

gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gcaaaagggg agtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaccaa tattacacct atcctctatt cacgtttggc 300

cagggcacca agctcgagat caag 324

<210> 313
<211> 121
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> CH1A1A; VH

<400> 313

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 314
<211> 363
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CH1A1A; VH

<400> 314
caggtgcagc tggtgcagtc 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> 315
<211> 594
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de 4G8-Fc(botón)-IL-2 qm

<400> 315

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
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 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Pro Ala
450 455 460

Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu
465 470 475 480

Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys
485 490 495

Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala Met Pro Lys Lys Ala Thr
500 505 510

Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu
515 520 525

Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg
530 535 540

Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser
545 550 555 560

Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val
565 570 575

Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala Gln Ser Ile Ile Ser Thr
580 585 590

Leu Thr

<210> 316
<211> 1782
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de 4G8-Fc(botón)-IL-2 qm

<400> 316
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360

aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420

gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc 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 accgtgccca 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

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat gccgggatga gctgaccaag 1080

aaccaggtca gcctgtggtg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200

gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320

ctctccctgt ctccgggtgg cggcggaggc tccggaggcg gaggttctgg cggaggtggc 1380

tccgcacctg cctcaagttc tacaaagaaa acacagctac aactggagca tttactgctg 1440

gatttacaga tgattttgaa tggaattaat aattacaaga atcccaaact caccaggatg 1500

ctcacagcca agtttgccat gcccaagaag gccacagaac tgaaacatct tcagtgtcta 1560

gaagaagaac tcaaacctct ggaggaagtg ctaaatggcg ctcaaagcaa aaactttcac 1620

ttaagaccca gggacttaat cagcaatatc aacgtaatag ttctggaact aaagggatct 1680

gaaacaacat tcatgtgtga atatgctgat gagacagcaa ccattgtaga atttctgaac 1740

agatggatta cctttgccca aagcatcatc tcaacactga ct 1782

<210> 317
<211> 447

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de 4G8-Fc(ojal)

<400> 317

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

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

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 318
<211> 1341
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de 4G8-Fc(ojal)

<400> 318
gaggtgcaat tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctccggatt cacctttagc agttatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcagatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagggtgg 300

ctgggtaatt ttgactactg gggccaagga accctggtca ccgtctcgag tgctagcacc 360

aagggcccct ccgtgttccc cctggccccc agcagcaaga gcaccagcgg cggcacagcc 420

gctctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaacagc 480

ggagccctga cctccggcgt gcacaccttc cccgccgtgc tgcagagttc tggcctgtat 540

agcctgagca gcgtggtcac cgtgccttct agcagcctgg gcacccagac ctacatctgc 600

aacgtgaacc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aggtggagcc caagagctgc 660

gacaaaactc acacatgccc accgtgccca 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

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcggcgcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtgcacc ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag 1080

aaccaggtca gcctctcgtg cgcagtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1140

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200

gacggctcct tcttcctcgt gagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1320

ctctccctgt ctccgggtaa a 1341

<210> 319
<211> 600
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de CH1A1A-Fc(botón)-IL-2 qm

<400> 319

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

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

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
450 455 460

Gly Gly Ser Ala Pro Ala Ser Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln
465 470 475 480

Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn
485 490 495

Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Ala Lys Phe Ala
500 505 510

Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu
515 520 525

Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu Val Leu Asn Gly Ala Gln Ser Lys Asn
530 535 540

Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val
545 550 555 560

Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp
565 570 575

Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Ala
580 585 590

Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
595 600

<210> 320
<211> 1800
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de CH1A1A-Fc(botón)-IL-2 qm

<400> 320
caggtgcagc tggtgcagtc 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

agcgctagca ccaagggccc 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 gaaggtggag 660

cccaagagct gcgacaagac ccacacctgt ccccttgtc ctgcccctga gctgctgggc 720

ggacccagcg tgttcctgtt 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 agtgcaaggt ctccaacaag gccctgcctg cccccatcga gaaaaccatc 1020

agcaaggcca agggccagcc cagagaaccc caggtgtaca ccctgccccc 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 gcggaggctc cggcggcgga 1380

ggttctggcg gaggtggctc cgcacctgcc tcaagttcta caaagaaaac acagctacaa 1440

ctggagcatt tactgctgga tttacagatg attttgaatg gaattaataa ttacaagaat 1500

cccaaactca ccaggatgct cacagccaag tttgccatgc ccaagaaggc cacagaactg 1560

aaacatcttc agtgtctaga agaagaactc aaacctctgg aggaagtgct aaatggcgct 1620

caaagcaaaa actttcactt aagacccagg gacttaatca gcaatatcaa cgtaatagtt 1680

ctggaactaa agggatctga aacaacattc atgtgtgaat atgctgatga gacagcaacc 1740

attgtagaat ttctgaacag atggattacc tttgcccaaa gcatcatctc aacactgact 1800

<210> 321
<211> 451
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de CH1A1A-Fc (ojal)

<400> 321

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
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

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 322
<211> 1353
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Fab de cadena pesada de CH1A1A-Fc(ojal)

<400> 322
caggtgcagc tggtgcagtc 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

agcgctagca ccaagggccc 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 gaaggtggag 660

cccaagagct gcgacaagac ccacacctgt ccccttgtc ctgcccctga gctgctgggc 720

ggacccagcg tgttcctgtt 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 agtgcaaggt ctccaacaag gccctgcctg cccccatcga gaaaaccatc 1020

agcaaggcca agggccagcc cagagaaccc caggtgtgca ccctgccccc cagcagagat 1080

gagctgacca agaaccaggt gtccctgagc tgtgccgtca agggcttcta ccccagcgat 1140

atcgccgtgg agtgggagag caacggccag cctgagaaca actacaagac cacccccct 1200

gtgctggaca gcgacggcag cttcttcctg gtgtccaaac tgaccgtgga caagagccgg 1260

tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgcagc gtgatgcacg aggccctgca caaccactac 1320

acccagaagt ccctgagcct gagccccggc aag 1353

<210> 323
<211> 215
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de CH1A1A

<400> 323

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr
20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 324
<211> 645
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> cadena ligera de CH1A1A

<400> 324
gatatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60

atcacttgca aggccagtgc ggctgtgggt acgtatgttg cgtggtatca gcagaaacca 120

gggaaagcac ctaagctcct gatctattcg gcatcctacc gcaaaagggg agtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagatttcg caacttacta ctgtcaccaa tattacacct atcctctatt cacgtttggc 300

cagggcacca agctcgagat caagcgtacg gtggctgcac catctgtctt catcttcccg 360

ccatctgatg agcagttgaa atctggaact 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 agtgt 645

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.M. 2177/89 MINJUSTICIA
ANITA L... ...AR DE TAMAYO

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

2011 MAY 26 A 6:50

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

071152
Anita Escobar.
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

Fotocopia fiel

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 socledad 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.

MINISTERIO DE
RELACIONES EXTERIORES

2011 MAY 26 A 6:50

JEFE DE LEGALIZACIONES
BOGOTA D.C.

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD
DEL TEXTO

071152

Anita Escobar.
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

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 parágrafo 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 creyeren 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 Bogota, 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
NOTAR BASEL

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:

Hanna Lauener

STATE CHANCERY * BASLE-CITY *

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.--



For true photocopy:

B a s e l (Switzerland), this 13th (thirteenth) day of July 2010 (two thousand and ten).

Dr. iur. A. Schlageter, notary

BV 165/2010

APOSTILLE

(Hague Convention of October 5th, 1961)

1. Country: Switzerland (Schweiz / Suisse)
   This official document
2. is signed by Dr. iur. A. A. Schlageter
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 4. Mai 2011
7. by the State Chancery of the Canton of Basel-Stadt
8. no. 2855/6082
9. Seal/stamp: STATE CHANCERY * BASLE-CITY *
10. Signature: H. Lauener
Hanna Lauener

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
TARJETA ARCHIVO TEMÁTICO

PATENTE DE INVENCION ____ PCT _X_ MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL ___

(21) No. de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 25-06-13
(51) Clasificación Internacional: **C07K 14/55**

(71) Solicitante(s): **ROCHE GLYCART AG**

(72) Inventor(es): AST, Oliver; BRUENKER, Peter; FREIMOSER-GRUNDSCHOBER, Anne; HERTER, Sylvia; HOFER, Thomas U.; HOSSE, Ralf; KLEIN, Christian; MOESSNER, Ekkehard; NICOLINI, Valeria G. y UMANA, Pablo.

(74) Apoderado: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

(30) Prioridad	(31) ***No. Prioridad***	(32) ***Fecha***	(33) ***País***
	11153964.9	10-02-11	EP
	11164237.7	29-04-11	EP

(85) Fecha límite inicio fase nacional: 10-09-13
(86) Datos relativos a la presentación de la solic. PCT
Fecha de presentación de la solicitud: *07-02-12*
No. de solicitud: ***PCT/EP2012/051991***

(87) Publicación internacional:
Fecha:***16-08-12***
No. Publicación: ***WO 2012/107417 A1***

(54) Titulo: **POLIPÉPTIDOS INTERLEUQUINA- 2 MUTANTES.**

(57) Resumen - Reivindicación(es):

Resumen.-
La presente invención se refiere de manera general a polipéptidos interleuquina-2 mutantes que muestran una afinidad reducida para la subunidad α del receptor de IL-2, para la utilización como agentes inmunoterapéuticos. Asimismo, la invención se refiere a inmunoconjugados que comprenden dichos polipéptidos IL-2 mutantes, moléculas polinucleótidas codificantes de los polipéptidos IL-2 mutantes o inmunoconjugados y vectores y células huésped que comprenden dichas moléculas polinucleótidas. La invención se refiere además a métodos para producir los polipéptidos mutantes o inmunoconjugados de IL-2, a composiciones farmacéuticas que los comprenden, y a los usos de los mismos.

Sector: Farmacéutico. La invención se refiere a polipéptidos IL-2 mutantes que muestran propiedades mejoradas para la utilización como agentes inmunoterapéuticos.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

PATENTE DE INVENCION ____ PCT __X__ MODELO DE UTILIDAD ____ DISEÑO INDUSTRIAL __

(21) No. de solicitud: (22) Fecha de solicitud: 25-06-13
(51) Clasificación Internacional: **C07K 14/55**

(71) Solicitante(s): **ROCHE GLYCART AG**

(72) Inventor(es): AST, Oliver; BRUENKER, Peter; FREIMOSER-GRUNDSCHOBER, Anne; HERTER, Sylvia; HOFER, Thomas U.; HOSSE, Ralf; KLEIN, Christian; MOESSNER, Ekkehard; NICOLINI, Valeria G. y UMANA, Pablo.

(74) Apoderado: **ALICIA LLOREDA RICAURTE**

(30) Prioridad	(31) ***No. Prioridad***	(32) ***Fecha***	(33) ***País***
	11153964.9	10-02-11	EP
	11164237.7	29-04-11	EP

(85) Fecha límite inicio fase nacional: 10-09-13
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT
Fecha de presentación de la solicitud: *07-02-12*
No. de solicitud: ***PCT/EP2012/051991***

(87) Publicación internacional
Fecha: ***16-08-12***
No. publicación: ***WO 2012/107417 A1***

(54) Titulo: **POLIPÉPTIDOS INTERLEUQUINA- 2 MUTANTES.**

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 0075/13 de un documento escrito en inglés, el cual para su identificación se sella con el sello del Traductor. Esta es una Traducción Oficial efectuada el día 22 de junio de 2013 por el Sr. Gabriel Ricaurte Echeverri, c. c. 25965 de Bogotá, Traductor Oficial según resolución No. 3987 de agosto 17 de 1981 expedida por el Ministerio de Justicia.

Caso 27307

Para copia fiel

Traspaso

Yo/ Nosotros, los suscritos

Anne Freimoser-Grundschober, científica, una ciudadana Suiza
Neunbrunnenstrasse 76, CH-8050 Zúrich, Suiza

Sylvia Herter, bióloga, una ciudadana Alemana
Roosstrasse 76, CH-8105 Regensdorf, Suiza

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

Ekkehard Moessner, científico investigador, un ciudadano Alemán
Feisenburgweg 5, CH-8280, Kreuzlingen, Suiza

Valeria G. Nicolini, científica senior, una ciudadana Española
Sandfelsenstrasse 4, CH-8703 Erlenbach/ZH, Suiza

Pablo Umaña, científico jefe, un ciudadano Costarricense
Fuhrstrasse 24a, CH-8820, Waedenswil, Suiza

Gabriel Ricaurte Echeverri
Traductor Oficial
Res. 3987 del Ministerio de
Justicia de Agosto 17 de 1981

LOS CEDENTES, con este documento declaran que Yo/Nosotros soy/somos el único (s) inventor(s) de la invención titulada:

POLIPÉPTIDOS INTERLEUQUINA- 2 MUTANTES

Para la cual se presentó la (s) primera(s) solicitud (es) como sigue:

País	Fecha de Presentación	No. de Serial
27307 EP	10.02.2011	11153964.9

Y a título oneroso, cuyo recibo suficiente se reconoce por el presente, Yo/Nosotros hemos vendido, cedido y transferido todo el derecho y título para y de la mencionada invención y de la mencionada solicitud (s) en todos los países del mundo al CESIONARIO:

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

Ésta cesión 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, Kasajstán, Corea, Luxemburgo, México, Mónaco, Países Bajos, Nueva Zelanda, Noruega, Pakistán, República Popular China, Filipinas, Polonia, Portugal, Rusia, Arabia Saudita, Sur África, España, Suecia, Suiza, Taiwán, Turquía, Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte, Ucrania, Uruguay, EEUU, Venezuela.

Por virtud de este traspaso el mencionado CESIONARIO está totalmente facultado para solicitar y obtener en su propio nombre o en cualquier otro nombre y para sus

Gabriel Ricaurte Echeverri
Traductor Oficial
Res. 3987 del Ministerio de
Justicia de Agosto 17 de 1981

propios objetivos y cuenta la PATENTE DE INVENCIÓN en todo el mundo, especialmente en los países arriba indicados, y reivindicar para la misma el derecho de prioridad de la primera(s) solicitud (s) en los países arriba indicados (países) de acuerdo con las convenciones internacionales.

Se requiere autenticación

(Ver firmas al dorso)

Firmado en Schlieren, Suiza

(Firmado 3.8 2011), Anne Freimoser-Grundschober
(Firmado), Sylvia Herter
(Firmado 27,2.2011), Christian Klein
(Firmado 28.7.2011), Ekkehard Moessner
(Firmado 21.6.2011), Valeria G. Nicolini
(Firmado 4.8.2011), Pablo Umaña

Nosotros aceptamos este traspaso
Basilea, Suiza, a los 5 días de septiembre de 2011

Roche Glycart AG

Antonio Natoli (Firmado) Susanne Amann (Firmado)

(Ambas firmantes debidamente autorizados)

Oficial
del Ministerio de
Agosto 17 de 1981

Certificación Oficial

Visto para autenticación de la anterior firma, declaración jurada, estampada en nuestra presencia por

El Sr. **Dr. Christian KLEIN**, nacido el 14 de julio de 1971, Nacionalidad: Alemana, de acuerdo con la información de él con residencia en Chrüzacherweg 41, 8906 Bonstetten,
Identificado por tarjeta de identidad Alemana.

Schlieren, 27 de mayo de 2011
BK No. 766
Derechos CHF 20.00

Sello en idioma alemán

Certificación Oficial

Visto para autenticación de la anterior firma, declaración jurada, estampada en nuestra presencia por

La Sra. **Maria Valeria GONZALEZ NICOLINI**, nacida el 25 de febrero de 1968, ciudadana Suiza de Spaniem, de acuerdo con la información de ella con residencia en Sandfelsenstrasse 4,8703 Erlenbach ZH,
Identificada por pasaporte

Schlieren, 21 de junio de 2011
BK No. 888
Derechos CHF 20.00

Sello en idioma alemán

Gabriel Ricaurte Echeverri
Traductor Oficial
Res. 3987 del Ministerio de
Justicia de Agosto 17 de 1981

Certificación Oficial

Visto para autenticación de la anterior firma, declaración jurada, estampada en nuestra presencia por

El Sr. Dr. **Ekkenhard MÖSSNER**, nacido el 20 de abril de 1967, Nacionalidad: Alemana, de acuerdo con la información de él con residencia en Felsenburgweg 5, 8280 Kreuzlingen,
Identificado por tarjeta de identidad Alemana

Schlieren, 28 de julio de 2011
BK No. 1157
Derechos CHF 20.00

Sello en idioma alemán

Certificación Oficial

Visto para autenticación de la anterior firma, declaración jurada, estampada en nuestra presencia por

La Sra. **Anne Margarita FREIMOSER,** nacida el 9 de febrero de 1971, ciudadana Suiza de Onex GE, de acuerdo con la información de ella con residencia en Neunbrunnenstrasse 76, 8050 Zúrich,
Identificada por tarjeta de identidad

Schlieren, 3 de agosto de 2011
BK No. 1195
Derechos CHF 20.00

Sello en idioma alemán
Beat Saner, Notario Público

Traductor Oficial
Res. 3987 del Ministerio de
Justicia de Agosto 17 de 1981

Certificación Oficial

Visto para autenticación de la anterior firma, declaración jurada, estampada en nuestra presencia por

La Sra. **Sylvia HERTER**, nacida el 3 de abril de 1978, Nacionalidad: Alemana, de acuerdo con la información de ella con residencia en Roosstrasse 76, 8105 Regensdorf,
Identificada por pasaporte.

Schlieren, 3 de agosto de 2011
BK No. 1201

Derechos CHF 20.00

Sello en idioma alemán

Certificación Oficial

Visto para autenticación de la anterior firma, declaración jurada, estampada en nuestra presencia por

El Sr. **Pablo UMAÑA FERNANDEZ**, nacido el 23 de septiembre de 1967, Nacionalidad: Costarricense, de acuerdo con la información de él con residencia en Felsenrainstrasse 28, 8832 Wollerau,
Identificado por permiso B de residencia,

Schlieren, 4 de agosto de 2011
BK No. 1220
Derechos CHF 20.00

Sello en idioma alemán
Tobías von Arx, Notario Público Delegado

Gabriel Picaure Echeverri
Traductor Oficial
Res. 3067 del Ministerio de
Justicia de Agosto 17 de 1981

Por copia fiel:

Basilea (Suiza), a los 8 (ocho) días de noviembre de 2011 (Dos Mil Once).

(Firmado)

BV 715

APOSTILLA

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

1. País: Suiza

Este documento oficial

2. está firmado por **Dr. (nombre ilegible)**

Christoph Nertz

3. en la función de él /ella como **Notario Público**

4. y certificada por el sello del arriba mencionado

Certificado

5. En Basilea 6. el día 10 de Nov. de 2011

7. por la Cancillería del Estado del Cantón de Basilea- Atadt

8. No. 7388/15650

9. sello/estampilla:	10. Firma (Firmado) Hanna Lauene

Sello de la Cancillería del Estado- Ciudad de Basilea

= = =

Es traducción fiel y completa de un documento escrito en inglés del cual queda copia en esta oficina y a la cual me remito para su confrontación

Gabriel Ricaurte Echeverri
Traductor Oficial
Res. 2987 del Ministerio de Justicia de Agosto 17 de 1981

Case 27307

Assignment

For true photocopy

I/WE, the undersigned

Anne Freimoser-Grundschober, scientist, a Swiss citizen
Neunbrunnenstrasse 76, CH-8050 Zuerich, Switzerland

Sylvia Herter, biologist, a German citizen
Roosstrasse 76, CH-8105 Regensdorf, 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

Valeria G. Nicolini, senior scientist, a Spanish citizen
Sandfelsenstrasse 4, CH-8703 Erlenbach/ZH, 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:

Mutant Interleukin-2 Polypeptides

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

Country	Filing date	Serial No.
27307 EP	10.02.2011	11153964.9

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)

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.

igned at Schlieren, Switzerland
on:

A. Freimoser 3.8.2011 Anne Freimoser-Grundschober

S. Herter Sylvia Herter

27.5.2011 Christian Klein

E. 28.7.2011 Ekkehard Moessner

21-6-2011 Valeria G. Nicolini

4-8-2011 Pablo Umaña

We accept this assignment
Basle, Switzerland, this
5 day of September 2011

Roche Glycart AG

Natoli Amann

Antonio Natoli Susanne Amann

(both duly authorized signatories)

Official Certification

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

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

Schlieren, 27th May 2011
BK no. 766
Fee CHF 20.00

NOTARIAT SCHLIEREN · Kt. Zürich ·

NOTARIAT SCHLIEREN

Markus Schmid, Notariatsassistent

NOTARIAT SCHLIEREN · Kt. Zürich ·

Official Certification

Seen for authentication of the foregoing signature, acknowledged in our presence by

Ms. **Maria Valeria GONZALEZ NICOLINI**, born 25th February 1968, Swiss citizen of Spanien, according to her information residing at Sandfelsenstrasse 4, 8703 Erlenbach ZH,
identified by passport.

Schlieren, 21st June 2011
BK no. 888
Fee CHF 20.00

NOTARIAT SCHLIEREN · Kt. Zürich ·

NOTARIAT SCHLIEREN

Markus Schmid, Notariatsassistent

Official Certification

Seen for authentication of the foregoing 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. 1157
Fee CHF 20.00

NOTARIAT SCHLIEREN

Markus Schmid, Notariatsassistent

Official Certification

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

Ms. **Anne** Margarita **FREIMOSER**, born 9th February 1971, Swiss citizen of Onex GE, according to her information residing at Neunbrunnenstrasse 76, 8050 Zürich,
identified by identity card.

Schlieren, 3rd August 2011
BK no. 1195
Fee CHF 20.00

NOTARIAT SCHLIEREN

Beat Saner, Notary Public

fficial Certification

een for authentication of the foregoing signature, affixed in our presence by

s. **Sylvia HERTER**, born 3rd April 1978, Nationality: Germany, according to her information residing at Roosstrasse 76, 8105 Regensdorf,
entified by passport.

hlieren, 3rd August 2011
K no. 1201
e CHF 20.00

NOTARIAT SCHLIEREN

Markus Schmid, Notariatsassistent

fficial Certification

een for authentication of the foregoing signature, affixed in our presence by

lr. **Pablo UMANA FERNANDEZ**, born 23rd September 1967, Nationality: Costa Rica, accord-
ıg to his information residing at Felsenrainstrasse 28, 8832 Wollerau,
dentified by residence permit B,

Schlieren, 4th August 2011
BK no. 1220
Fee CHF 20.00

NOTARIAT SCHLIEREN · Kt. Zürich ·

NOTARIAT SCHLIEREN

Tobias von Arx, Deputy Notary Public

For true photocopy:

B a s e l (Swtzerland), this 8th (eighth) day of November 2011 (two thousand and eleven).

BV 715/

APOSTILLE

(Hague Convention of October 5th, 1961)

1. Country: Switzerland (Schweiz / Suisse)
   This official document –
2. is signed by Dr. iur. Christoph 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 10. Nov. 2011
7. by the State Chancery of the Canton of Basel-Stadt
8. no. 7388/15650
9. Seal /stamp: 10. Signature:

Hanna Lauener

STATE CHANCERY * BASLE-CITY *

TRADUCCIÓN OFICIAL No. 0076/13 de un documento escrito en inglés, el cual para su identificación se sella con el sello del Traductor. Esta es una Traducción Oficial efectuada el día 22 de junio de 2013 por el Sr. Gabriel Ricaurte Echeverri, c. c. 25965 de Bogotá, Traductor Oficial según resolución No. 3987 de agosto 17 de 1981 expedida por el Ministerio de Justicia.

Caso 27444

Para copia fiel

Traspaso

Yo/ Nosotros, los suscritos

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

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

Thomas U. Hofer, científico investigador, un ciudadano Suizo
Buhnrain 8
CH-8052 Zúrich, Suiza

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

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

Gabriel Ricaurte Echeverri
Traductor Oficial
Res. 3987 del Ministerio de
Justicia de Agosto 17 de 1981

Ekkehard Moessner, científico investigador, un ciudadano Alemán
Feisenburgweg 5
CH-8280, Kreuzlingen, Suiza

Pablo Umaña, científico jefe, un ciudadano Costarricense
Fuhrstrasse 24a
CH-8820, Waedenswil, Suiza

LOS CEDENTES, con este documento declaran que Yo/Nosotros soy/somos el (los) único (s) inventor(s) de la invención titulada:

Gabriel Ricaurte Echeverri
Traductor Oficial
Res. 3987 del Ministerio de Justicia de Agosto 17 de 1981

Immunoconjugados Novedosos

Para la cual se presentó la (s) primera(s) solicitud (es) como sigue:

País	Fecha de Presentación	No. de Serial
27444 EP	29.04.2011	11164237.7

Y a título oneroso, cuyo recibo suficiente se reconoce por el presente, Yo/Nosotros hemos vendido, cedido y transferido todo el derecho y título para y de la mencionada invención y de la mencionada solicitud (s) en todos los países del mundo al CESIONARIO:

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

Se requiere autenticación

(Firmas al dorso)

Ésta cesión 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, Kasajstán, Corea, Luxemburgo, México, Mónaco, Países Bajos, Nueva Zelanda, Noruega, Pakistán, República Popular China, Filipinas, Polonia, Portugal, Rusia, Arabia Saudita, Sur África, España, Suecia, Suiza, Taiwán, Turquía, Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte, Ucrania, Uruguay, EEUU, Venezuela.

Por virtud de este traspaso el mencionado CESIONARIO está totalmente facultado para solicitar y obtener en su propio nombre o en cualquier otro nombre y para sus propios objetivos y cuenta la PATENTE DE INVENCIÓN en todo el mundo, especialmente en los países arriba indicados, y reivindicar para la misma el derecho de prioridad de la primera(s) solicitud (s) en los países arriba indicados (países) de acuerdo con las convenciones internacionales.

Firmado en Schlieren, Suiza

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

Certificación Oficial

Visto para autenticación de la anterior firma, declaración jurada, estampada en nuestra presencia por

El Sr. Dr. **Ekkenhard MÖSSNER**, nacido el 20 de abril de 1967, Nacionalidad: Alemana, de acuerdo con la información de él con residencia en Felsenburgweg 5, 8280 Kreuzlingen, identificado por tarjeta de identidad Alemana.

Schlieren, 28 de julio de 2011
BK No. 1158
Derechos CHF 20.00

Sello en idioma alemán

Certificación Oficial

Visto para autenticación de la anterior firma, declaración jurada, estampada en nuestra presencia por

El Sr. **Pablo UMAÑA FERNANDEZ**, nacido el 23 de septiembre de 1967, Nacionalidad: Costarricense, de acuerdo con la información de él con residencia en Felsenrainstrasse 28, 8832 Wollerau,
Identificado por permiso B de residencia,

El Sr. Dr. **Christian KLEIN**, nacido el 14 de julio de 1971, Nacionalidad: Alemana, de acuerdo con la información de él con residencia en Chrüzacherweg 41, 8906 Bonstetten,
Identificado por tarjeta de identidad Alemana.

Gabriel Ricardo Echeverri
Traductor Oficial
Res. 2167 del Ministerio de
Justicia de Agosto 17 de 1981

Schlieren, 4 de agosto de 2011
BK No. 1214 + 1215
Derechos CHF 40.00

Sello en idioma alemán
Tobías von Arx, Notario Público Delegado

Certificación Oficial

Visto para autenticación de la anterior firma, declaración jurada, estampada en nuestra presencia por

El Sr. Dr. **Oliver AST**, nacido el 18 de marzo de 1967, Nacionalidad: Alemana, de acuerdo con la información de él con residencia en Chrüzacherstrasse 14, 8303 Bassersdorf, identificado con permiso de residencia B,

El Sr. **Peter BRUENKER**, nacido el 10 de octubre de 1963, Ciudadano Suizo de Hittnau, de acuerdo con la información de él con residencia en Burgwiesenstrasse 3c, 8335 Hittnau, identificado con pasaporte,

El Sr. **Thomas U. HOFER**, nacido el 6 de junio de 1974, Ciudadano Suizo de Haldenstein GR, de acuerdo con la información de él con residencia en Alte Mühleackertrasse 50, 8046 Zúrich,
Identificado con tarjeta de identidad,

El Sr. Dr. **Ralf HOSSE**, nacido el 29 de junio de 1973, Nacionalidad: Alemana, de acuerdo con la información de él con residencia en Schmiedstrasse 8, 6330 Cham, identificado con tarjeta de identidad Alemana.

Schlieren, 23 de agosto de 2011
BK No. 1402-1405
Derechos CHF 80.00

Sello en idioma alemán

Nosotros aceptamos este traspaso

Basilea, Suiza, a los 5 días de septiembre de 2011

Roche Glycart AG

Antonio Natoli (Firmado) Susanne Amann (Firmado)

Gabriel Pizarro Echeverri
Traductor Oficial
Res. 3987 del Ministerio de
Justicia de Agosto 17 de 1981

Por copia fiel:

Basilea (Suiza), a los 7 (siete) días de junio de 2013 (Dos Mil Trece).

(Firmado)

BV 417/2013

APOSTILLA

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

1. País: Confederación Suiza, Cantón de la ciudad de Basilea

   Ubicación Schweizeizerische Eidgenossenschaft, Cantón de Basilea-Stadt

   Este documento público

2. está firmado por **Dr. Iur. Christoph Nertz**
3. actuando en su condición de **Notario Público**
4. lleva el sello estampado de **Nertz Christoph**

Certificado

5. En Basilea 6. el día 12. 06.2013

7. por la Oficina de Legalización de Cantón de la ciudad de Basilea

8. No. 8662 Impuesto CHF 20.00

9. sello/estampilla:	10. Firma (Firmado) Hanna Lauener

Sello con el siguiente texto: Cantón ciudad de Basilea-legalizaciones

= = =

Es traducción fiel y completa de un documento escrito en inglés del cual queda copia en esta oficina y a la cual me remito para su confrontación

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:

Country	Filing date	Serial No.
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

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

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

NOTARIAT SCHLIEREN
Kt. Zürich

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:

B a s e l (Switzerland), this 7th (seventh) day of June 2013 (two thousand and thirteen).

BV 417/2013

APOSTILLE

(Convention de la Haye du 5 octobre 1961)

1. Country / Land: **Swiss Confederation, Canton of Basel-City** / **Schweizerische Eidgenossenschaft, Kanton Basel-Stadt**

   This public document / Diese öffentliche Urkunde

2. has been signed by / ist unterschrieben von: **Dr. iur. Christoph Nertz**

3. acting in the capacity of / in seiner Eigenschaft als: **notary public**

4. bears the stamp/seal of / Sie ist versehen mit dem Stempel/Siegel des/der: **Nertz Christoph**

   Certified / Bestätigt

5. at / in: **Basel** 6. the / am: **12.06.2013**

7. by the / durch das: **Legalisation Office of the Canton of Basel-City** / **Beglaubigungsbüro des Kantons Basel-Stadt**

8. No. / Nr.: **8662** tax / Taxe: **CHF 20.00**

9. stamp/seal / Stempel/Siegel

10. Signature / Unterschrift: **Hanna Lauener**

CANTON BASEL-CITY * LEGALISATIONS *