PROTEÍNAS DE UNIÓN TRIESPECÍFICAS Y/O TRIVALENTES

REFERENCIAS CRUZADAS A SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica el beneficio de la prioridad de la solicitud provisional de los U. S. con número de serie 62/322.036, presentada el 13 de abril de 2016; la prioridad de la solicitud provisional de los U. S. con número de serie 62/331.191, presentada el 3 de mayo de 2016; la prioridad de la solicitud provisional de los U. S. con número de serie 62/412.187, presentada el 24 de octubre de 2016; y la solicitud EP N.º EP17305298.6, presentada el 17 de marzo de 2017, que se incorporan en la presenta por referencia en su totalidad.

PRESENTACIÓN DEL LISTADO DE SECUENCIA EN ARCHIVO DE TEXTO ASCII

El contenido de la siguiente presentación en archivo de texto ASCII se incorpora en la presente por referencia en su totalidad: una forma legible por computadora (CRF) del listado de secuencias (nombre del archivo: 183952027140SEQLISTING.txt, fecha registrada: 11 de abril de 2017, tamaño: 200 KB).

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La descripción se refiere a proteínas de unión triespecíficas y/o trivalentes que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión al antígeno que se unen específicamente a una o más proteínas diana, donde un primer par de polipéptidos que forman la proteína de unión poseen dominios variables duales que tienen una orientación cruzada y donde un segundo par de polipéptidos que forman la proteína de unión posee un dominio variable único. La descripción también se refiere a métodos para preparar proteínas de unión triespecíficas y/o trivalentes y los usos de tales proteínas de unión.

ANTECEDENTES

Los agentes bioterapéuticos basados en anticuerpos monoclonales se han convertido en una vía importante para el desarrollo de nuevos fármacos. La tecnología de anticuerpos monoclonales ofrece direccionamiento específica, administración de

señalización precisa y/o carga útil para la población celular específica, y proporciona un efecto biológico duradero a través de sus funciones Fc. Los esfuerzos en la ingeniería de anticuerpos han permitido desarrollar anticuerpos biespecíficos que combinan las especificidades de dos anticuerpos monoclonales para diversas aplicaciones biológicas, lo que amplía el alcance del desarrollo del fármaco de anticuerpo. Los anticuerpos neutralizantes recién descubiertos con amplitud y potencia mejoradas pueden proporcionar más opciones para desarrollar agentes bioterapéuticos para tratar enfermedades complejas tales como cáncer, artritis y/o trastornos inflamatorios.

BREVE EXPOSICIÓN

Se proporcionan en la presente proteínas de unión multiespecíficas (por ejemplo, anticuerpos) que forman tres sitios de unión a antígeno. Estas proteínas de unión pueden unirse específicamente con uno, dos o tres dianas de antígenos o proteínas diana.

En una realización, la descripción proporciona una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno que específicamente se unen con una o varias dianas de antígenos o proteínas diana, en donde una primera cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}–C_{H1} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}–C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada C_{H1} de inmunoglobulina; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

y en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada.

En algunas realizaciones, la segunda y/o la tercera cadena polipeptídica también comprenden una región Fc ligada con C_{H1}, en donde la región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}.

En otra realización, la descripción proporciona una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno que se unen específicamente a una o varias proteínas diana, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}–C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada C_{H1} de inmunoglobulina;

C_{H2} es un dominio constante de cadena pesada C_{H2} de inmunoglobulina;

C_{H3} es un dominio constante de cadena pesada C_{H3} de inmunoglobulina;

bisagra es una región bisagra de inmunoglobulina que conecta los dominios C_{H1} y C_{H2}; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

y en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada.

En algunas realizaciones, la proteína de unión es triespecífica y capaz de unir específicamente tres diferentes dianas de antígenos. En algunas realizaciones, la proteína de unión es trivalente pero biespecífica y capaz de unirse específicamente con tres dianas de antígenos, siendo iguales dos de ellos. En algunas realizaciones, la proteína de unión de la presente descripción es trivalente pero monoespecífica y capaz de unirse específicamente con tres dianas de antígenos, siendo todos ellos iguales. En algunas realizaciones, la proteína de unión es capaz de inhibir la función de una o varias proteínas diana. En algunas realizaciones, la proteína de unión es triespecífica y capaz de unirse específicamente con tres diferentes dianas de antígenos.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende uno, dos o tres sitios de unión a antígeno que específicamente unen una proteína diana selecciona de A2AR, APRIL, ATPDasa, BAFF, BAFFR, BCMA, BliS, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4 (también conocida como VTCN1), B7H5, B7H6, B7H7, B7RP1, B7–4, C3, C5, CCL2 (también conocida como MCP–1), CCL3 (también conocida como

MIP–1a), CCL4 (también conocida como MIP–1b), CCL5 (también conocida como RANTES), CCL7 (también conocida como MCP–3), CCL8 (también conocida como mcp–2), CCL11 (también conocida como eotaxina), CCL15 (también conocida como MIP–1d), CCL17 (también conocida como TARC), CCL19 (también conocida como MIP–3b), CCL20 (también conocida como MIP–3a), CCL21 (también conocida como MIP–2), CCL24 (también conocida como MPIF–2/eotaxina–2), CCL25 (también conocida como TECK), CCL26 (también conocida como eotaxina–3), CCR3, CCR4, CD3, CD19, CD20, CD23 (también conocida como FCER2, un receptor para IgE), CD24, CD27, CD28, CD38, CD39, CD40, CD70, CD80 (también conocida como B7–1), CD86 (también conocida como B7–2), CD122, CD137 (también conocida como 41BB), CD137L, CD152 (también conocida como CTLA4), CD154 (también conocida como CD40L), CD160, CD272, CD273 (también conocida como PDL2), CD274 (también conocida como PDL1), CD275 (también conocida como B7H2), CD276 (también conocida como B7H3), CD278 (también conocida como ICOS), CD279 (también conocida como PD–1), CDH1 (también conocida como E–cadherina), quitinasa, CLEC9, CLEC91, CRTH2, CSF–1 (también conocida como M–CSF), CSF–2 (también conocida como GM–CSF), CSF–3 (también conocida como GCSF), CX3CL1 (también conocida como SCYD1), CXCL12 (también conocida como SDF1), CXCL13, CXCR3, DNGR–1, ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa 1, EGFR, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, Gi24, GITR, GITRL, GM–CSF, Her2, HHLA2, HMGB1, HVEM, ICOSLG, IDO, IFNα, IgE, IGF1R, IL2Rbeta, IL1, IL1A, IL1B, IL1F10, IL2, IL4, IL4Ra, IL5, IL5R, IL6, IL7, IL7Ra, IL8, IL9, IL9R, IL10, rhIL10, IL12, IL13, IL13Ra1, IL13Ra2, IL15, IL17, IL17Rb (también conocida como receptor para IL25), IL18, IL22, IL23, IL25, IL27, IL33, IL35, ITGB4 (también conocida como b4 integrina), ITK, KIR, LAG3, LAMP1, leptina, LPFS2, MHC clase II, NCR3LG1, NKG2D, NTPDasa–1, OX40, OX40L, PD–1H, receptor plaquetario, PROM1, S152, SISP1, SLC, SPG64, ST2 (también conocida como receptor para IL33), STEAP2, Syk quinasa, TACI, TDO, T14, TIGIT, TIM3, TLR, TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, TMEF1, TNFa, TNFRSF7, Tp55, TREM1, TSLP (también conocida como co-

receptor para IL7Ra), TSLPR, TWEAK, VEGF, VISTA, Vstm3, WUCAM y XCR1 (también conocida como GPR5/CCXCR1). En algunas realizaciones, uno o varios de los dianas de antígenos anteriores son dianas de antígenos humanos. En algunas realizaciones, la proteína de unión de la presente descripción es triespecífica y capaz de unirse específicamente con tres diferentes dianas de antígenos seleccionados de la lista anterior. En algunas realizaciones, la proteína de unión de la presente descripción es trivalente pero biespecífica y capaz de unirse específicamente con tres dianas de antígenos seleccionados de la lista anterior, siendo dos de ellos iguales. En algunas realizaciones, la proteína de unión de la presente descripción es trivalente pero monoespecífica y capaz de unirse específicamente con tres dianas de antígenos seleccionados de la lista anterior, siendo todos ellos iguales. En algunas realizaciones, la proteína de unión se une específicamente con tres proteínas diana que corresponden a dos proteínas diana en células T y a una proteína diana tumoral. En algunas realizaciones, una de dichas proteínas diana en células T es CD3. En algunas realizaciones, una de dichas proteínas diana en células T es CD28. En algunas realizaciones, dicha proteína diana tumorales CD38. En algunas realizaciones, la proteína de unión se une específicamente tres proteínas diana que corresponden a dos proteínas diana en células T y a una proteína diana seleccionada del grupo que consiste en A2AR, APRIL, ATPDasa, BAFF, BAFFR, BCMA, BlyS, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, B7H5, B7H6, B7H7, B7RP1, B7–4, C3, C5, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CCL15, CCL17, CCL19, CCL20, CCL21, CCL24, CCL25, CCL26, CCR3, CCR4, CD3, CD19, CD20, CD23, CD24, CD27, CD28, CD38, CD39, CD40, CD70, CD80, CD86, CD122, CD137, CD137L, CD152, CD154, CD160, CD272, CD273, CD274, CD275, CD276, CD278, CD279, CDH1, quitinasa, CLEC9, CLEC91, CRTH2, CSF–1, CSF–2, CSF–3, CX3CL1, CXCL12, CXCL13, CXCR3, DNGR–1, ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa 1, EGFR, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, Gi24, GITR, GITRL, GM–CSF, Her2, HHLA2, HMGB1, HVEM, ICOSLG, IDO, IFNα, IgE, IGF1R, IL2Rbeta, IL1, IL1A, IL1B, IL1F10, IL2, IL4, IL4Ra, IL5, IL5R, IL6, IL7, IL7Ra, IL8, IL9, IL9R, IL10, rhIL10, IL12, IL13,

IL13Ra1, IL13Ra2, IL15, IL17, IL17Rb, IL18, IL22, IL23, IL25, IL27, IL33, IL35, ITGB4, ITK, KIR, LAG3, LAMP1, leptina, LPFS2, MHC clase II, NCR3LG1, NKG2D, NTPDasa–1, OX40, OX40L, PD–1H, receptor plaquetario, PROM1, S152, SISP1, SLC, SPG64, ST2, STEAP2, Syk quinasa, TACI, TDO, T14, TIGIT, TIM3, TLR, TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, TMEF1, TNFa, TNFRSF7, Tp55, TREM1, TSLP, TSLPR, TWEAK, VEGF, VISTA, Vstm3, WUCAM y XCR1.

En otra realización, la descripción proporciona una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno, en donde una primera cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}–C_{H1} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}–C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada C_{H1} de inmunoglobulina; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada;

en donde:

(a) V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} son cada uno, de modo independiente, un dominio variable derivado de una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 2, 4, 10, 14, 18, 22, 115;

(b) $V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera de un dominio variable que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 43–59, 123–125;

(c) V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165 y 167; o

(d) $V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera que comprenden una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 43–59, 123–125, 138–140 y 149; o

(e) $V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera y/o secuencia del dominio variable mostrada en las tablas 2–5; y

en donde:

(a) $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} son cada uno, de modo independiente, un dominio variable derivado de una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 1, 3, 9, 13, 17, 21, 114;

(b) V_{H1}, V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada de un dominio variable que

comprende una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 25–42, 120–122;

(c) $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164 y 166;

(d) V_{H1}, V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada que comprenden una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 25–42, 120–122 y 126–128, o

(e) V_{H1}, V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada y/o una secuencia de dominio variable mostrada en las tablas 2–5.

En algunas realizaciones, la segunda y/o la tercera cadena polipeptídica también comprenden una región Fc ligada con C_{H1}, en donde la región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}.

En otra realización, la descripción proporciona una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

V_{L3}–C_L [IV]

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada C_{H1} de inmunoglobulina;

C_{H2} es un dominio constante de cadena pesada C_{H2} de inmunoglobulina;

C_{H3} es un dominio constante de cadena pesada C_{H3} de inmunoglobulina;

bisagra es una región bisagra de inmunoglobulina que conecta los dominios C_{H1} y C_{H2}; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada;

en donde:

(a) V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} son cada uno, de modo independiente, un dominio variable derivado de una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 2, 4, 10, 14, 18, 22, 115;

(b) $V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera de un dominio variable que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 43–59, 123–125;

(c) V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165 y 167; o

(d) $V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera que comprenden una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 43–59, 123–125, 138–140 y 149, o

(e) $V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera y/o una secuencia de dominio variable mostrada en las tablas 2–5;

en donde:

(a) $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} son cada uno, de modo independiente, un dominio variable derivado de una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 1, 3, 9, 13, 17, 21, 114;

(b) V_{H1}, V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada de un dominio variable que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 25–42, 120–122;

(c) $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164 y 166; o

(d) V_{H1}, V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada de un dominio variable que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 25–42, 120–122 y 126–128, o

(e) V_{H1}, V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada y/o una secuencia de dominio variable mostrada en las tablas 2–5.

En algunas realizaciones, V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en una cualquiera de las SEQ ID NOs:151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, y 167; y $V_{H1,}$ $V_{H2,}$ y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en una cualquiera de las SEQ ID NOs:150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, y 166. En algunas realizaciones, $V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera que comprenden una secuencia de aminoácidos establecida en una cualquiera de las SEQ ID NOs: 43-59, 123-125, 138-140, y 149; y (d) V_{H1}, V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada que comprenden una secuencia de aminoácidos establecida en una cualquiera de las SEQ ID NOs: 25-42, 120-122, y 126-128.

En algunas realizaciones de cualquiera de las proteínas de unión descritas en la presente, (a) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47, y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende

la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45; (b) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45; (c) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:30; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57; (d) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57; (e) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59; (f) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:33; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59; (g) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140; (h) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140; (i) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:30; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 120, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 121 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 122; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125; o (j) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 120, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 121 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 122; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125. En algunas realizaciones, (a) V_{H1} comprende un CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, un CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y un CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L1} comprende un CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, un CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y un CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H2} comprende un CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25, un CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26 y un CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27; V_{L2} comprende un CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43, un CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y un CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45; V_{H3} comprende un CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25, un CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26 y un CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27; y V_{L3} comprende un CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43, un CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y un CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45.

En algunas realizaciones, la proteína de unión comprende un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína de superficie de células T y otro sitio de unión a antígeno que se une específicamente a un blanco de antígeno, por ejemplo,

una proteína diana tumoral. En algunas realizaciones, la proteína de unión comprende un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3, un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 y un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral seleccionada del grupo que consiste en CD19, CD20, CD38, Her2 y LAMP1. En algunas realizaciones, V_{H1} y V_{L1} forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3 humana, V_{H2} y V_{L2} forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 humana y V_{H3} y V_{L3} forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral humano. En algunas realizaciones, V_{H1} y V_{L1} forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 humana, V_{H2} y V_{L2} forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3 humana y V_{H3} y V_{L3} forman un tercer sitio de unión que se une específicamente a una proteína diana tumoral humano. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno se une específicamente con una proteína diana tumoral humano seleccionada del grupo que consiste en CD19, CD20, CD38, Her2 y LAMP1. En algunas realizaciones, el sitio de unión con antígeno que se une específicamente a CD3 comprende: (a) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 152 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153; o (b) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente con CD3 comprende seis CDR, o un dominio variable de cadena pesada y de cadena pesada, mostrado en las tablas 2–5. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 comprende: (a) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 160 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 161; o (b) un dominio variable de cadena pesada que comprende la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 162 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 163. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente con CD28 comprende seis CDR, o un dominio variable de cadena pesada y de cadena pesada, mostrado en las tablas 2–5. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral comprende: (a) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 156 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 157; (b) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 159; (c) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 164 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 165; (d) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 150 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 151; o (e) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 166 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 167. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente con una proteína diana tumoral comprende seis CDR, o un dominio variable de cadena pesada y de cadena pesada, mostrado en las tablas 2–5. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral comprende seis CDR, o un dominio variable de cadena pesada y uno de cadena ligera, de un dominio de unión de anti-Her2, anti-CD19, anti-CD20, anti-CD38 o anti-LAMP1, mostrado en las Tablas 2-5.

En otra realización, la descripción proporciona una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno, en donde una primera cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L$ [I]

y una segunda cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1}$ [II]

y una tercera cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$V_{H3}–C_{H1}$ [III]

y una cuarta cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$V_{L3}–C_L$ [IV]

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada C_{H1} de inmunoglobulina; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada;

en donde:

(a) V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} son cada uno, de modo independiente, un dominio variable derivado de una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 61, 63, 69, 71, 74, 76, 82, 86, 88, 94; o

(b) V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera de un dominio variable de al menos una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 61, 63, 69, 71, 74, 76, 82, 86, 88, 94;

(c) V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 169, 171 y 173;

(d) $V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 141–147, 178 y 179; o

(e) $V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera y/o una secuencia de dominio variable mostrada en las tablas 2–5; y

en donde:

(a) $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} son cada uno, de modo independiente, un dominio variable derivado de una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 60, 62, 68, 73, 75, 81, 85, 87, 93; o

(b) $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada de un dominio variable de al menos una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 60, 62, 68, 73, 75, 81, 85, 87, 93;

(c) $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 168, 170 y 172;

(d) $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 129–137, o

(e) $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada y/o una secuencia de dominio variable mostrado en las tablas 2–5.

En algunas realizaciones, la segunda y/o la tercera cadena polipeptídica también comprenden una región Fc ligada con C_{H1}, en donde la región Fc comprende una región

bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}.

En otra realización, la descripción proporciona una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}–C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada C_{H1} de inmunoglobulina;

C_{H2} es un dominio constante de cadena pesada C_{H2} de inmunoglobulina;

C_{H3} es un dominio constante de cadena pesada C_{H3} de inmunoglobulina;

bisagra es una región bisagra de inmunoglobulina que conecta los dominios C_{H1} y C_{H2}; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada;

en donde:

(a) V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} son cada uno, de modo independiente, un dominio variable derivado de una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 61, 63, 69, 71, 74, 76, 82, 86, 88, 94;

(b) $V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera de un dominio variable de al menos una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 61, 63, 69, 71, 74, 76, 82, 86, 88, 94;

(c) V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 169, 171 y 173;

(d) $V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 141–147, 178 y 179; o

(e) $V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera y/o una secuencia de dominio variable mostrada en las tablas 2–5;

en donde:

(a) $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} son cada uno, de modo independiente, un dominio variable derivado de una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 60, 62, 68, 73, 75, 81, 85, 87, 93;

(b) $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada de un dominio variable de al menos una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 60, 62, 68, 73, 75, 81, 85, 87, 93;

(c) $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 168, 170 y 172;

(d) $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 129–137;

(e) V_{H1}, V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada y/o una secuencia de dominio variable mostrada en las tablas 2–5.

En algunas realizaciones, V_{L1}, $V_{L2\ y}$ V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de un dominio variable expuesta en una cualquiera de SEQ ID NOs:169, 171, y 173; y $V_{H1,}$ $V_{H2,\ y}$ V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de un dominio variable expuesta en una cualquiera de SEQ ID NOs:168, 170, y 172. En algunas realizaciones, $V_{L1,}$ $V_{L2\ y}$ V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 141-147, 178, y 179; y $V_{H1,}$ $V_{H2\ y}$ V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 129-137.

En algunas realizaciones de cualquiera de las proteínas de unión descritas en la presente, (a) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una

CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; (b) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR–L3 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; (c) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146: y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; (d) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; (e) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; (f) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; (g) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; (h) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; (i) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; o (j) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144. En algunas realizaciones, uno o varios de V_{H1}, V_{L1}, V_{H2}, V_{L2}, V_{H3} y V_{L3} comprenden una, dos o tres secuencias de CDR de un anticuerpo mostradas en las tablas 2–5.

En algunas realizaciones, la proteína de unión comprende tres sitios de unión a antígeno, donde uno, dos o tres de los sitios de antígenos se unen cada uno específicamente con una proteína diana de citoquina seleccionada del grupo que consiste en IL–4, IL–13 y TNFa. En algunas realizaciones, (a) VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano, VH2 y VL2 forman un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana y VH3 y VL3 forman un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana; (b) VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano, VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana y VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana; (c) VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana, VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano y VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana; (d) VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana, VH2 y VL2 forman un

segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana y VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano; (e) VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana, VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana y VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano; o (f) VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana, VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano y VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 168 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 169. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 170 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 171. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 172 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 173.

En algunas realizaciones de cualquiera de las proteínas de unión descritas en la presente, la segunda y/o la tercera cadena polipeptídica también comprende una región Fc ligada con C_{H1}, donde la región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}. En algunas realizaciones, al menos uno de L_1, L_2, L_3 o L_4 tiene independientemente una longitud de 0 aminoácidos. En algunas realizaciones, L_1, L_2, L_3 o L_4 tienen cada uno, de modo independiente, una longitud de al menos un aminoácido. En algunas realizaciones, la

proteína de unión es triespecífica y capaz de unirse específicamente con tres diferentes dianas de antígenos. En algunas realizaciones, la proteína de unión es triespecífica y capaz de unirse específicamente con tres diferentes dianas de antígenos. En algunas realizaciones, la proteína de unión es capaz de inhibir la función de una o varias proteínas diana.

En algunas realizaciones de cualquiera de las proteínas de unión descritas en la presente, al menos uno de L_1, L_2, L_3 o L_4 tiene independientemente una longitud de 0 aminoácidos. En algunas realizaciones, L_1, L_2, L_3 o L_4 tienen cada uno, de modo independiente, una longitud de al menos un aminoácido. En algunas realizaciones, uno, dos, tres o todos los cuatro de L_1, L_2, L_3 y L_4 tienen una longitud de entre 0 y 15 aminoácidos. En algunas realizaciones, al menos dos de L_1, L_2, L_3 y L_4 tienen una longitud de entre 1 y 15 aminoácidos. En algunas realizaciones, (a) L_1, L_2, L_3 y L_4 cada uno, de modo independiente, tienen cero aminoácidos de longitud o comprenden una secuencia seleccionada del grupo que consiste en GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:104), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:105), S, RT, TKGPS (SEQ ID NO:106), GQPKAAP (SEQ ID NO: 175), y GGSGSSGSGG (SEQ ID NO:148); o (b) L_1, L_2, L_3 y L_4 comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia seleccionada del grupo que consiste en GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:104), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:105), S, RT, TKGPS (SEQ ID NO:106), GQPKAAP (SEQ ID NO: 175) y GGSGSSGSGG (SEQ ID NO:148). En algunas realizaciones, L_1 comprende la secuencia GQPKAAP (SEQ ID NO: 175), L_2 comprende la secuencia TKGPS (SEQ ID NO:106), L_3 comprende la secuencia S y L_4 comprende la secuencia RT; L_1 comprende la secuencia GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:104), L_2 comprende la secuencia GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:104), L_3 tiene una longitud de 0 aminoácidos y L_4 tiene una longitud de 0 aminoácidos; L_1 comprende la secuencia GGSGSSGSGG (SEQ ID NO:148), L_2 comprende la secuencia GGSGSSGSGG (SEQ ID NO:148), L_3 tiene una longitud de 0 aminoácidos y L_4 tiene una longitud de 0 aminoácidos; o L_1 comprende la secuencia GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:105), L_2

tiene una longitud de 0 aminoácidos, L_3 comprende la secuencia GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:105) y L_4 tiene una longitud de 0 aminoácidos.

En algunas realizaciones de cualquiera de las proteínas de unión descritas en la presente, la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}, en donde la primera región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; y en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}, en donde la segunda región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368 y 407 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A e Y407V. En algunas realizaciones, la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}, en donde la primera región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368 y 407 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A e Y407V; y en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}, en donde la segunda región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W. En algunas

realizaciones, la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3} y en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde la primera y la segunda región Fc comprenden sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 428 y 434 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son M428L y N434S. En algunas realizaciones, el dominio C_{H3} de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; y en donde el dominio C_{H3} de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368 y 407 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A e Y407V. En algunas realizaciones, el dominio C_{H3} de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368 y 407 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A e Y407V; y en donde el dominio C_{H3} de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W. En algunas realizaciones, los dominios C_{H3} de la segunda y la tercera cadena polipeptídica comprenden sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 428 y 434 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son M428L y N434S. En algunas realizaciones, la segunda

cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; y en donde sólo una de la primera y la segunda región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 435 y 436 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son H435R e Y436F. En algunas realizaciones, los dominios C_{H3} de la segunda y la tercera cadena polipeptídica son dominios C_{H3} de IgG1 o IgG4 humana y en donde sólo uno de los dominios C_{H3} comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 435 y 436 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son H435R e Y436F. En algunas realizaciones, la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde la primera y/o la segunda región Fc son regiones Fc de IgG4 humana; y en donde la primera y la segunda región Fc comprenden cada una sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 228 y 409 de IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S228P y R409K. En algunas realizaciones, los dominios C_{H3} de la segunda y la tercera cadena polipeptídica son dominios C_{H3} de IgG4 humana y en donde los dominios C_{H3} comprenden cada uno sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 228 y 409 de IgG4 humana de acuerdo con

el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S228P y R409K. En algunas realizaciones, la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde la primera y la segunda región Fc son regiones Fc de IgG4 humana; y en donde la primera y/o la segunda región Fc comprenden cada una sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 234 y 235 de IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son F234A y L235A. En algunas realizaciones, los dominios C_{H3} de la segunda y la tercera cadena polipeptídica son dominios C_{H3} de IgG4 humana y en donde los dominios C_{H3} comprenden cada uno sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 234 y 235 de IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son F234A y L235A. En algunas realizaciones, la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde la primera y la segunda región Fc son regiones Fc de IgG1 humana; y en donde la primera y/o la segunda región Fc comprenden cada una sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 234 y 235 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son L234A y L235A. En algunas realizaciones, los dominios C_{H3} de la segunda y la tercera cadena polipeptídica son dominios C_{H3} de IgG1 humana y en donde los dominios C_{H3} comprenden cada uno sustituciones de aminoácidos

en las posiciones correspondientes a las posiciones 234 y 235 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son L234A y L235A. En algunas realizaciones, la primera y/o la segunda región Fc son regiones Fc de IgG1 humana. En algunas realizaciones, la primera y/o la segunda región Fc son regiones Fc de IgG4 humana.

En algunas realizaciones de cualquiera de las proteínas de unión descritas en la presente, el dominio C_L de la primera cadena polipeptídica es un dominio C_L kappa humano y el dominio C_L de la cuarta cadena polipeptídica es un dominio C_L lambda humano; o el dominio C_L de la primera cadena polipeptídica es un dominio C_L lambda humano y el dominio C_L de la cuarta cadena polipeptídica es un dominio C_L kappa humano. En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende un dominio C_L lambda; en donde el dominio C_{H3} de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; en donde el dominio C_{H3} de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368, 407, 435 y 436 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A, Y407V, H435R e Y436F; y en donde la cuarta cadena polipeptídica comprende un dominio CL kappa. En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende un dominio CL lambda; en donde el dominio CH3 de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de la IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; en donde el dominio CH3 de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368, 407, 435 y 436 de la IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A, Y407V, H435R e Y436F; y

en donde la cuarta cadena polipeptídica comprende un dominio CL kappa. En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende un dominio CL lambda; en donde el dominio CH3 de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354, 366, 435 y 436 de la IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C, T366W, H435R e Y436F; en donde el dominio CH3 de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368 y 407 de la IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A e Y407V; y en donde la cuarta cadena polipeptídica comprende un dominio CL kappa. En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende un dominio CL kappa; en donde el dominio CH3 de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de la IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; en donde el dominio CH3 de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368, 407, 435 y 436 de la IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A, Y407V, H435R e Y436F; y en donde la cuarta cadena polipeptídica comprende un dominio CL lambda. En algunas realizaciones, la segunda y/o la tercera cadena polipeptídica comprenden una región Fc de IgG1 o IgG4 humana.

En otra realización, la descripción proporciona una proteína de unión que comprende una primera cadena polipeptídica, una segunda cadena polipeptídica, una tercera cadena polipeptídica y una cuarta cadena polipeptídica en donde:

(a) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la segunda cadena polipeptídica comprende

la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2;

(b) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2;

(c) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14;

(d) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14;

(e) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18;

(f) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

NO: 17; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18;

(g) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22;

(h) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22;

(i) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 o una secuencia de aminoácidos que es al

menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61;

(j) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61;

(k) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71;

(l) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74;

(m) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74;

(n) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 88 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 88; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 87 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 87; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

NO: 85; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86;

(o) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 94 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 94; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 93 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 93; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86;

(p) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74;

(q) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 o una secuencia de aminoácidos que es

al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86;

(r) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74;

(s) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86;

(t) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115;

(u) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115.

En otra realización, la descripción proporciona una molécula de ácido nucleico aislada que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína de unión o su polipéptido de acuerdo con cualquiera de las anteriores realizaciones. En otra realización, la descripción proporciona un vector de expresión que comprende la molécula de ácido nucleico de acuerdo con una de las anteriores realizaciones. En otra realización,

la descripción proporciona una célula huésped aislada que comprende la molécula de ácido nucleico de acuerdo con cualquiera de las anteriores realizaciones. En otra realización, la descripción proporciona una célula huésped aislada que comprende el vector de expresión de acuerdo con cualquiera de las anteriores realizaciones. En algunas realizaciones, la célula huésped aislada es una célula de mamífero o una célula de insecto. En una realización, la descripción proporciona un sistema de vectores que comprende uno o varios vectores que codifican una primera, segunda, tercera y cuarta cadena polipeptídica de una proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las anteriores realizaciones. En algunas realizaciones, el sistema de vectores comprende un primer vector que codifica la primera cadena polipeptídica de la proteína de unión, un segundo vector que codifica la segunda cadena polipeptídica de la proteína de unión, un tercer vector que codifica la tercera cadena polipeptídica de la proteína de unión y un cuarto vector que codifica la cuarta cadena polipeptídica de la proteína de unión. En algunas realizaciones, el sistema de vectores comprende un primer vector que codifica la primera y la segunda cadena polipeptídica de la proteína de unión y un segundo vector que codifica la tercera y la cuarta cadena polipeptídica de la proteína de unión. En algunas realizaciones, los uno o varios vectores son vectores de expresión. En una realización, la descripción proporciona una célula huésped aislada que comprende el sistema de vectores de acuerdo con cualquiera de las anteriores realizaciones. En una realización, la descripción proporciona un método de producción de una proteína de unión, que comprende: a) cultivar una célula huésped de acuerdo con cualquiera de las anteriores realizaciones en condiciones tales que la célula huésped exprese la proteína de unión; y b) aislar la proteína de unión de la célula huésped. En una realización, la descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende la proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las anteriores realizaciones y un portador farmacéuticamente aceptable.

En otra realización, la descripción proporciona un método de prevención y/o tratamiento de cáncer en un paciente que comprende la administración al paciente de una

cantidad terapéuticamente efectiva de al menos una proteína de unión o composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las anteriores realizaciones. En otra realización, la descripción proporciona una proteína de unión o composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las anteriores realizaciones para usar en la prevención y/o el tratamiento de cáncer en un paciente. En otra realización, la descripción proporciona una proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las anteriores realizaciones para la producción de un medicamento para la prevención y/o el tratamiento de cáncer en un paciente. En algunas realizaciones, la proteína de unión comprende un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína de superficie de células T y otro sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral. En algunas realizaciones, la proteína de unión comprende un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3, un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 y un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral seleccionada del grupo que consiste en CD19, CD20, CD38, Her2 y LAMP1. En algunas realizaciones, la al menos una proteína de unión se coadministra con un agente quimioterapéutico. En algunas realizaciones, es paciente es un humano. En algunas realizaciones, la proteína de unión es capaz de inhibir la función de una o varias proteínas diana seleccionadas del grupo que consiste en A2AR, APRIL, ATPDasa, BAFF, BAFFR, BCMA, BlyS, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, B7H5, B7H6, B7H7, B7RP1, B7–4, C3, C5, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CCL15, CCL17, CCL19, CCL20, CCL21, CCL24, CCL25, CCL26, CCR3, CCR4, CD3, CD19, CD20, CD23, CD24, CD27, CD28, CD38, CD39, CD40, CD70, CD80, CD86, CD122, CD137, CD137L, CD152, CD154, CD160, CD272, CD273, CD274, CD275, CD276, CD278, CD279, CDH1, quitinasa, CLEC9, CLEC91, CRTH2, CSF–1, CSF–2, CSF–3, CX3CL1, CXCL12, CXCL13, CXCR3, DNGR–1, ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa 1, EGFR, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, Gi24, GITR, GITRL, GM–CSF, Her2, HHLA2, HMGB1, HVEM, ICOSLG, IDO, IFNα, IgE, IGF1R, IL2Rbeta, IL1, IL1A, IL1B, IL1F10, IL2, IL4, IL4Ra, IL5, IL5R, IL6, IL7, IL7Ra, IL8, IL9, IL9R, IL10, rhIL10,

IL12, IL13, IL13Ra1, IL13Ra2, IL15, IL17, IL17Rb, IL18, IL22, IL23, IL25, IL27, IL33, IL35, ITGB4, ITK, KIR, LAG3, LAMP1, leptina, LPFS2, MHC clase II, NCR3LG1, NKG2D, NTPDasa–1, OX40, OX40L, PD–1H, receptor plaquetario, PROM1, S152, SISP1, SLC, SPG64, ST2, STEAP2, Syk quinasa, TACI, TDO, T14, TIGIT, TIM3, TLR, TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, TMEF1, TNFa, TNFRSF7, Tp55, TREM1, TSLP, TSLPR, TWEAK, VEGF, VISTA, Vstm3, WUCAM y XCR1.

En otra realización, la descripción proporciona un método de prevención y/o tratamiento de una enfermedad o trastorno inflamatorio en un paciente que comprende la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos una proteína de unión o composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las anteriores realizaciones. En otra realización, la descripción proporciona una proteína de unión o composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las anteriores realizaciones para usar la prevención y/o el tratamiento de una enfermedad o trastorno inflamatorio en un paciente. En otra realización, la descripción proporciona una proteína de unión de acuerdo con cualquiera de las anteriores realizaciones para la producción de un medicamento para prevenir y/o tratar una enfermedad o trastorno inflamatorio en un paciente. En algunas realizaciones, la proteína de unión comprende tres sitios de unión a antígeno que se unen cada uno específicamente con una proteína diana de citoquina seleccionado del grupo que consiste en IL–4, IL–13 y TNFa. En algunas realizaciones, dos de los tres sitios de unión se unen específicamente con una proteína diana de citoquina seleccionada del grupo que consiste en IL–4, IL–13 y TNFa. En algunas realizaciones, la al menos una proteína de unión se coadministra con un agente antiinflamatorio. En algunas realizaciones, es paciente es un humano. En algunas realizaciones, la proteína de unión es capaz de inhibir la función de una o varias proteínas diana seleccionadas del grupo que consiste en A2AR, APRIL, ATPDasa, BAFF, BAFFR, BCMA, BlyS, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, B7H5, B7H6, B7H7, B7RP1, B7–4, C3, C5, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CCL15, CCL17, CCL19, CCL20, CCL21, CCL24, CCL25, CCL26, CCR3, CCR4, CD3,

CD19, CD20, CD23, CD24, CD27, CD28, CD38, CD39, CD40, CD70, CD80, CD86, CD122, CD137, CD137L, CD152, CD154, CD160, CD272, CD273, CD274, CD275, CD276, CD278, CD279, CDH1, quitinasa, CLEC9, CLEC91, CRTH2, CSF–1, CSF–2, CSF–3, CX3CL1, CXCL12, CXCL13, CXCR3, DNGR–1, ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa 1, EGFR, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1Gi24, GITR, GITRL, GM–CSF, Her2, HHLA2, HMGB1, HVEM, ICOSLG, IDO, IFNα, IgE, IGF1R, IL2Rbeta, IL1, IL1A, IL1B, IL1F10, IL2, IL4, IL4Ra, IL5, IL5R, IL6, IL7, IL7Ra, IL8, IL9, IL9R, IL10, rhIL10, IL12, IL13, IL13Ra1, IL13Ra2, IL15, IL17, IL17Rb, IL18, IL22, IL23, IL25, IL27, IL33, IL35, ITGB4, ITK, KIR, LAG3, LAMP1, leptina, LPFS2, MHC clase II, NCR3LG1, NKG2D, NTPDasa–1, OX40, OX40L, PD–1H, receptor plaquetario, PROM1, S152, SISP1, SLC, SPG64, ST2, STEAP2, Syk quinasa, TACI, TDO, T14, TIGIT, TIM3, TLR, TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, TMEF1, TNFa, TNFRSF7, Tp55, TREM1, TSLP, TSLPR, TWEAK, VEGF, VISTA, Vstm3, WUCAM y XCR1.

En otra realización, la descripción proporciona un método de purificación de una proteína de unión producida por una célula huésped, que comprende:

(a) proporcionar una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígenos que se unen específicamente con una o varias proteínas diana, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1}\text{-bisagra-}C_{H2}\text{-}C_{H3} \quad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}–C_{H1} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}–C_L \qquad [IV]$$

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H1};

C_{H2} es un dominio constante de cadena pesada C_{H2} de inmunoglobulina;

C_{H3} es un dominio constante de cadena pesada C_{H3} de inmunoglobulina;

bisagra es una región bisagra de inmunoglobulina que conecta los dominios C_{H1} y C_{H2};

y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

yen donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada; en donde sólo uno del dominio CH3 de la segunda cadena polipeptídica y el dominio CH3 de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 435 y 436 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son H435R e Y436F;

(b) poner en contacto la proteína de unión producida en (a) con la proteína A; y

(c) eluir la proteína de unión a partir de la proteína A en condiciones apropiadas para aislar la proteína de unión de las proteínas de unión que comprende 0 ó 2 dominios CH3 que comprenden las sustituciones de aminoácidos son H435R e Y436F.

En algunas realizaciones, el dominio C_L de la primera cadena polipeptídica es un dominio C_L kappa humano, y el dominio C_L de la cuarta cadena polipeptídica es un dominio C_L lambda humano; o el dominio C_L de la primera cadena polipeptídica es un dominio C_L

lambda humano, y el dominio C_L de la cuarta cadena polipeptídica es un dominio C_L kappa humano, y el método también comprende: (d) poner en contacto la proteína de unión eluida en (c) con un medio de afinidad de cadena ligera kappa; y (e) eluir la proteína de unión del medio de afinidad de cadena ligera kappa en condiciones apropiadas para aislar la proteína de unión de las proteínas de unión que comprende sólo dominios CL lambda. En algunas realizaciones, el método también comprende, después de (e), (f) poner en contacto la proteína de unión eluida en (e) con un medio de afinidad de cadena ligera lambda; y (g) eluir la proteína de unión del medio de afinidad de cadena ligera lambda en condiciones apropiadas para aislar la proteína de unión de las proteínas de unión que comprende sólo dominios CL kappa. En algunas realizaciones, el dominio C_L de la primera cadena polipeptídica es un dominio C_L kappa humano, y el dominio C_L de la cuarta cadena polipeptdídica es un dominio C_L lambda humano; o el dominio C_L de la primera cadena polipeptídica es un dominio C_L lambda humano, y el dominio C_L de la cuarta cadena polipeptídica es un dominio C_L kappa humano, y el método comprende además: (d) poner en contacto la proteína de unión eluída en (c) con un medio de afinidad hacia cadena ligera lambda; y (e) eluir la proteína de unión del medio de afinidad hacia cadena ligera lambda en condiciones adecuadas para aislar la proteína de unión alejada de las proteínas de unión que comprenden solo dominios C_L kappa. En algunas realizaciones, el método comprende además, después de (e), (f) poner en contacto la proteína de unión eluída en (e) con un medio de afinidad hacia cadena ligera kappa; y (g) eluir la proteína de unión del medio de afinidad hacia cadena ligera kappa en condiciones adecuadas para aislar la proteína de unión alejada de las proteínas de unión que comprenden solo dominios C_L lambda. En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende un dominio CL lambda; en donde el dominio CH3 de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; en donde el dominio CH3 de la tercera cadena

polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368, 407, 435 y 436 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A, Y407V, H435R e Y436F; y en donde la cuarta cadena polipeptídica comprende un dominio C_L kappa. En algunas realizaciones, la proteína de unión se detecta en uno o varios de (c) y (e) usando cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC). En algunas realizaciones, los dominios C_{H3} y/o las regiones Fc de la segunda y la tercera cadena polipeptídica son dominios C_{H3} de IgG1 o IgG4 humanos y/o regiones Fc.

Se ha de entender que una, varias o todas las propiedades de las distintas realizaciones descritas en la presente se pueden combinar para formar otras realizaciones de la presente invención. Estos y otros aspectos de la invención se volverán obvios para un experto en la técnica. Estas y otras realizaciones de la invención se describen luego por medio de la siguiente descripción detallada.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las **FIGS. 1A–1C** muestran representaciones esquemáticas de proteínas de unión triespecíficas que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión al antígeno que se unen específicamente a tres proteínas diana, donde un primer par de polipéptidos poseen dominios variables duales que tienen una orientación cruzada (VH1–VH2 y VL2–VL1) que forma dos sitios de unión al antígeno, y donde un segundo par de polipéptidos posee un dominio variable único (VH3 y VL3) que forma un sitio de unión al antígeno único. La **FIG. 1A** muestra una proteína de unión triespecífica que comprende una mutación de "botones en ojales", donde el botón está en el segundo par de polipéptidos con un dominio variable único. La **FIG. 1B** muestra una proteína de unión triespecífica que comprende una mutación "botones en ojales", donde el botón está en el primer par de polipéptidos que tienen la orientación cruzada. La **FIG. 1C** muestra la orientación de dominios variables en las cadenas polipeptídicas y la orientación de botón/ojal para las proteínas de unión mostradas en las Tablas 1–3. La "cadena pesada A" (por ejemplo, una

tercera cadena polipeptídica de la presente descripción) indica el dominio variable de la cadena pesada A. La "cadena ligera A" (por ejemplo, una cuarta cadena polipeptídica de la presente descripción) indica el dominio variable de la cadena ligera A. La cadena B pesada (por ejemplo, una segunda cadena polipeptídica de la presente descripción) indica el dominio variable 1 y el dominio variable 2 de la cadena pesada B. La "cadena ligera B" (por ejemplo, una primera cadena polipeptídica de la presente descripción) indica el dominio variable 1 y el dominio variable 2 de la cadena ligera B.

La **FIG. 2 m**uestra los resultados de un ensayo ELISA que determina la unión de un anticuerpo triespecífico de IgG4 anti–Her2 x CD28 x CD3 (proteína de unión 1), o anticuerpo de control de isotipo, anti–CD3, CD28 y Her2 humano. Los anticuerpos unidos se detectaron usando un anticuerpo secundario anti–Fab conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP).

Las **FIGS. 3A–3C m**uestran los resultados de la destrucción específica mediada por anticuerpos de células de cáncer de mama $Her2^+$ usando un anticuerpo triespecífico de IgG4 anti–Her2 x CD28 x CD3 (denominado en la presente como "proteína de unión 1"), un anticuerpo biespecífico IgG4 anti–CD28 x CD3 (huCD28 x CD3), un anticuerpo IgG1 anti–Her2, o un anticuerpo de control (IgG1 humana), usando PBMC humanos en el E:T = 10. La **FIG. 3A** muestra los resultados de la destrucción específica mediada por anticuerpos triespecíficos de las células ZR–75–1. La **FIG. 3B** muestra los resultados de la destrucción específica mediada por anticuerpos triespecíficos de células AU565. . La **FIG. 3D** muestra los resultados del análisis FACS que determina la expresión en la superficie celular de los marcadores indicados en las células ZR–75–1 y AU565..

FIGS. 4 & 5 muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células de cáncer de mama Her2+ usando un anticuerpo triespecífico de IgG4 anti–Her2 x CD28 x CD3 (Proteína de unión 1), un anticuerpo biespecífico IgG4 anti–CD28 x CD3 (huCD28 x CD3), un anticuerpo anti–Her2 IgG1, o un anticuerpo de control (IgG1 humana). **FIG. 4** muestra los resultados de la destrucción específica mediada

por anticuerpos de las células ZR–75–1 usando células mononucleares de sangre periférica humana (PBMCs) del donante KP45926 a E:T=10. La **FIG. 5** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células AU565 usando las PBMC humanos del donante KP45944 a E:T=10. Las **FIGS. 4 & 5** confirmar resultados de destrucción celular similares como se muestra en las **FIGS. 3A–3C** usando las PBMC de un dador diferente.

Las **FIGS. 6A & 6B** muestran la activación ($CD69^+$) y la proliferación de células T humanas tratadas con proteína de unión triespecífica de IgG4 anti–Her2 x CD28 x CD3 ($HER2/CD28_{sup}xCD3_{mid}$; denominada en la presente como “proteína de unión 1”), proteína de unión triespecífica de IgG4 anti–Her2 x CD28 x CD3 que carece del dominio de unión anti–CD28 ($HER2/\Delta CD28_{sup}xCD3_{mid}$), proteína de unión triespecífica de IgG4 anti–Her2 x CD28 x CD3 que carece del dominio de unión anti–CD3 ($HER2/CD28_{sup}x\Delta CD3_{mid}$), proteína de unión triespecífica de IgG4 anti–Her2 x CD28 x CD3 que carece de los dominios de unión anti–CD28 y anti–CD3 ($HER2/\Delta(CD28_{sup}x\Delta CD3_{mid})$), anticuerpo monoclonal anti–CD3 control, o anticuerpo IgG4 control. La **FIG. 6A** muestra la activación ($CD69^+$) de células T $CD4^+$ humanas de tres donantes. La **FIG. 6B** muestra la activación ($CD69^+$) de las células T CD8+ humanas de tres donantes. $CD28_{sup}$: anticuerpo superagonista anti–CD28. $CD3_{mid}$: anticuerpo anti–CD3.

Las FIGS. 7A–C muestran la activación de la vía IL–2, NFκB y el factor nuclear de las células T activadas (NFAT) mediante la señalización anti–CD3 y anti–CD28, medida por el ensayo de luciferasa utilizando células T Jurkat humanas con un constructo promotor–luciferasa IL–2 (**FIG. 7A**), un constructo promotor–luciferasa NFκB (**FIG. 7B**), o un constructo promotor–luciferasa NFAT (**FIG. 7C**). Los anticuerpos ensayados fueron los descritos anteriormente en las **FIGS. 6A–6D**.

La **FIG. 8** muestra los resultados de un ensayo ELISA que determina la unión de un anticuerpo triespecífico de IgG4 anti–Her2 x CD28 x CD3 (denominado en la presente como "proteína de unión 3"), o anticuerpo de control de isotipo, anti– CD3, CD28 y CD19.

Los anticuerpos unidos se detectaron usando un anticuerpo secundario anti–Fab conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP).

Las **FIGS. 9A–9N** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células de linfoma GCB humano $CD19^+$ usando un anticuerpo triespecífico de IgG4 anti–Her2 x CD28 x CD3 (denominada en la presente como “proteína de unión 3”), o los controles indicados, usando PBMC humanos como células efectoras en E:T=10. La **FIG. 9A** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de células OCI–LY19. La **FIG. 9B** muestra los resultados del análisis FACS que determina la expresión en la superficie celular de los marcadores indicados en las células OCI–LY19. La **FIG. 9C** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células OCI–LY19 usando las PBMC del dador KP48572 a E:T=10.

La **FIG. 9D** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células OCI–LY19 usando las PBMC del dador KP48573 a E:T=10. La **FIG. 9E** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células KARPASS–422 de linfoma humano usando las PBMC del dador KP48572 a E:T=10. La **FIG. 9F** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células KARPASS–422 usando las PBMC del dador KP48573 a E:T=10. La **FIG. 9G** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de células MeC1 de leucemia de células B crónica humana usando las PBMC del dador KP48572 a E:T=10. La **FIG. 9H** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células RPMI8226 de mieloma múltiple humano usando las PBMC del dador KP48775 a E:T=10. La **FIG. 9I** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de células Raji del linfoma de Burkitt humano usando las PBMC del dador KP48572 a E:T=10. La **FIG. 9J** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de células HBL1 de linfoma difuso de células B grandes humanos usando las PBMC del dador KP48775 a E:T=10. La **FIG. 9K** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de células de SUDHL8 de linfoma de

células grandes usando las PBMC del dador KP48572 a E:T=10. La **FIG. 9L** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células SUDHL8 usando las PBMC del dador KP48573 a E:T=10. La **FIG. 9M** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de células ARH77 de linfoma de células B humano usando las PBMC del dador KP48775 a E:T=10. La **FIG. 9N** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células OCI–Ly3 usando las PBMC del dador KP48775 a E:T=10.

La FIG. 10 muestra los resultados de un ensayo ELISA que determina la unión de un anticuerpo triespecífico de IgG4 anti–Her2 x CD28 x CD3 o anticuerpo de control de isotipo, anti– CD3, CD28 y CD38. Los anticuerpos unidos se detectaron usando un anticuerpo secundario anti–Fab conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP).

Las **FIGS. 11A–11D** muestran los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células de cáncer de mieloma múltiple humano CD38+ usando un anticuerpo triespecífico de IgG4 anti–CD38 x CD28 x CD3 (Proteína de unión 5), un anticuerpo biespecífico IgG4 anti–CD28 x CD3 (huCD28 x CD3), un anticuerpo anti–CD38 IgG1, o un anticuerpo de control (IgG1 humana). La **FIG. 11A** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células MOLP–8 usando PBMC humano como células efectoras a E:T=10. La **FIG. 11B** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células RPMI–8226 usando PBMC humanos como células efectoras a E:T=10. La **FIG. 11C** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células KMS–12–BM usando PBMC humanos como células efectoras a E:T=10. La **FIG. 11D** muestra los resultados de análisis FACS que determina la expresión en la superficie celular de los marcadores indicados en las células MOLP–8, RPMI–8226, y KMS–12–BM.

Las **FIGS. 12A–12D** muestran los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de células de cáncer de mieloma múltiple humano CD38+ usando un anticuerpo triespecífico de IgG4 anti–CD38 x CD28 x CD3 (Proteína de unión 5), un

anticuerpo biespecífico IgG4 anti–CD28 x CD3 (huCD28 x CD3), un anticuerpo anti–CD38 IgG1, o un anticuerpo de control (IgG1 humana), usando PBMC humanos como células efectoras a E:T=10 . La **FIG. 12A** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células NCI–H929. La **FIG. 12B** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células MM.1S. La **FIG. 12C** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células MM.1R. La **FIG. 12D** muestra los resultados de análisis FACS que determina la expresión en la superficie celular de los marcadores indicados en las células NCI–H929, MM.1S, y MM.1R.

Las **FIGS. 13A–13D** muestran los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células de cáncer de mieloma múltiple humano CD38+ usando un anticuerpo triespecífico de IgG4 anti–CD38 x CD28 x CD3 (Proteína de unión 5), un anticuerpo biespecífico IgG4 anti–CD28 x CD3 (huCD28 x CD3), un anticuerpo anti–CD38 IgG1, o a anticuerpo de control (IgG1 humana), usando PBMC humanos como células efectoras a E:T=10. **FIG. 13A** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células OPM–2. La **FIG. 13B** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células KMS–26, La **FIG. 13C** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células U266. La **FIG. 13D** muestra los resultados de análisis FACS que determina la expresión en la superficie celular de los marcadores indicados en las células OPM–2, KMS–26, y U226.

Las **FIGS. 14A–14C** muestran los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de células cancerosas de linfoma humano CD38+ usando un anticuerpo triespecífico de IgG4 anti–CD38 x CD28 x CD3 (Proteína de unión 5), un anticuerpo biespecífico IgG4 anti–CD28 x CD3 (huCD28 x CD3), un anticuerpo anti–CD38 IgG1, o a anticuerpo de control (IgG1 humana), usando PBMC humanos como células efectoras a E:T=10. La **FIG. 14A** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células SUDHL–8. La **FIG. 14B** muestra los resultados de destrucción

específica mediada por anticuerpos de las células OCI–LY19. La **FIG. 14C** muestra los resultados de análisis FACS que determina la expresión en la superficie celular de los marcadores indicados en las células SUDHL–8 y OCI–LY19.

Las **FIGS. 15A–15D** muestran los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células cancerosas de ALL CD38+ usando un anticuerpo triespecífico de IgG4 anti–CD38 x CD28 x CD3 (Proteína de unión 5), un anticuerpo biespecífico IgG4 anti–CD28 x CD3 (huCD28 x CD3), un anticuerpo anti–CD38 IgG1, o a anticuerpo de control (IgG1 humana), usando PBMC humanos como células efectoras a E:T=10. La **FIG. 15A** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células KOPN–8. La **FIG. 15B** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células HAL–1. La **FIG. 15C** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células CCRF–SB. La **FIG. 15D** muestra los resultados de análisis FACS que determina la expresión en la superficie celular de los marcadores indicados en las células KOPN–8, HAL–1, y CCRF–SB.

La **FIG. 16** muestra los resultados de destrucción específica mediada por anticuerpos de las células cancerosas de mieloma $CD38^+$ usando los anticuerpos triespecíficos anti–CD38 x CD28 x CD3 IgG4 (denominada en la presente como “Proteína de unión 5” y “Proteína de unión 6” que depende del dominio de unión anti–CD28 específico usado), un anticuerpo biespecífico IgG4 anti–CD28 x CD3 (huCD28 x CD3), un anticuerpo anti–CD38 IgG1, a control anticuerpo anti–CD38 IgG1, o un anticuerpo de control (IgG1 humana), usando las PBMC del dador PK45926 a E:T=10.

Las **FIGS. 17A & 17B** muestran IL–2, NFκB, y factor nuclear de activación de la vía de las células T activadas (NFAT) por medio de señalización anti–CD3 y anti–CD28, medido por ensayo de luciferasa usando células T Jurkat humanas con un constructo de promotor IL–2–luciferasa (**FIG. 17A**) o un constructo de promotor NFAT–luciferasa (**FIG. 17B**). Los anticuerpos analizados fueron anticuerpo IgG4 triespecífico de IgG4 anti–CD38 x CD28 x CD3 (Proteína de unión 5, marcado como “Tri–Ab”), anticuerpo IgG4 triespecífico

de IgG4 anti–CD38 x CD28 x CD3 que carece del dominio de unión CD28 (marcado como "Tri–Ab (ΔCD28)), anticuerpo IgG4 triespecífico de IgG4 anti–CD38 x CD28 x CD3 que carece del dominio de unión CD3 (marcado como "Tri–Ab (ΔCD3)), y anticuerpo IgG4 triespecífico de IgG4 anti–CD38 x CD28 x CD3 que carece del CD3 y dominios de unión CD28 (marcado como "Tri–Ab (ΔCD28x ΔCD3)). Los ensayos de luciferasa se realizaron por duplicado para cada uno de los Tri–Ab indicados.

Las **FIGS. 18A–18E** muestran los resultados de un estudio de toxicidad del escalado de dosis usando el anticuerpo triespecífico de IgG4 anti–Her2 x CD28 x CD3 (denominada en la presente como "Proteína de unión 1") en primates no humanos (escalado de dosis de 0,1, 0,5, 2,5, 5, 10, a 100 µg/kg; animales marcados como "409" y "410"). La **FIG. 18A** muestra los resultados de porcentaje de células T CD4+ circulantes en cada animal, 6 horas después de la administración del anticuerpo triespecífico anti–Her2 x CD28 x CD3. La **FIG. 18B** muestra los resultados de porcentaje de células T CD8+ circulantes en cada animal, 6 horas después de la administración del anticuerpo triespecífico anti–Her2 x CD28 x CD3. La **FIG. 18C** muestra los resultados de la activación ($CD69^+$) de células T CD4+ circulantes 6 horas después de dosificación. La **FIG. 18D** muestra los resultados de la activación ($CD69^+$) de células T CD8+ circulantes 6 horas después de la dosificación. La **FIG. 18E** muestra la liberación de citoquinas inflamatorias observada 6 horas después de administrar el anticuerpo triespecífico anti–Her2 x CD28 x CD3 en cada dosis.

Las **FIGS. 19A–B** muestran la actividad antitumoral *in vivo* del anticuerpo triespecífico de IgG4 anti–Her2 x CD28 x CD3 (denominada en la presente como "Proteína de unión 1") en el modelo de ratón NSG humanizado con células de sangre de cordón umbilical CD34 + implantado con células BT474. La **FIG. 19A** muestra el cambio en el peso corporal de ratones tratados con las concentraciones indicadas de la proteína de unión triespecífica anti–Her2 x CD28 x CD3 o control PBS. La **FIG. 19B** muestra el cambio en el

volumen tumoral en los ratones tratados con las concentraciones indicadas de la proteína de unión triespecífica anti–Her2 x CD28 x CD3 o control PBS.

Las **FIGS. 20A–20H** muestran la actividad antitumoral *in vivo* del anticuerpo triespecífico de IgG4 anti–Her2 x CD28 x CD3 (denominada en la presente como “Proteína de unión 1”) en el modelo de ratón NSG humanizado con PBMC humanos implantado con células BT474. La **FIG. 20A** muestra el efecto de administrar las concentraciones indicadas de la proteína de unión triespecífica anti–Her2 x CD28 x CD3, las concentraciones indicadas de Herceptina, o control de vehículo, sobre el peso corporal de los ratones. La **FIG. 20B** muestra la actividad antitumoral dependiente de la dosis de la proteína de unión triespecífica anti–Her2 x CD28 x CD3, Herceptina o controles indicados, como en los ratones individuales. La **FIG. 20C** muestra el volumen tumoral promedio en los ratones después de la administración de las concentraciones indicadas de la proteína de unión triespecífica anti–Her2 x CD28 x CD3 o control PBS. La **FIG. 20D** muestra el volumen tumoral promedio en los ratones después de la administración de las concentraciones indicadas de Herceptina o control PBS. La **FIG. 20E** muestra los gráficos de barra del volumen tumoral promedio en el día 34 en los ratones después de la administración de las concentraciones indicadas de la proteína de unión triespecífica anti–Her2 x CD28 x CD3, las concentraciones indicadas de Herceptina, o control PBS. La **FIG. 20F** muestra el peso tumoral promedio en el día 34 en los ratones después de la administración de las concentraciones indicadas de la proteína de unión triespecífica anti–Her2 x CD28 x CD3, las concentraciones indicadas de Herceptina, o control PBS. La **FIG. 20G** muestra las células CD45+, CD3+, CD4+, CD8+ humanas en la sangre de los ratones al final del estudio. La **FIG. 20H** muestra las células CD45+, CD3+, CD4+, CD8+ humanas en los bazos de los ratones en el fin del estudio.

Las **FIGS. 21A–F** muestran los resultados de un estudio de toxicidad del escalado de dosis usando el anticuerpo triespecífico de IgG4 anti–CD38 x CD28 x CD3 (Proteína de unión 5) en primates no humanos (escalado de dosis de 0,1, 0,5, 2,5, 5, 10, a 100 µg/kg).

La **FIG. 21A** muestra la activación de células Tn ($CD69^+$) (gráfico de líneas) y proliferación (gráfico de barras) de células T CD4+ circulantes después de la administración del anticuerpo triespecífico anti–CD38 x CD28 x CD3. La **FIG. 21B** muestra activación de células T ($CD69^+$) (gráfico de líneas) y proliferación (gráfico de barras) de las células T CD8+ circulantes después de la administración del anticuerpo triespecífico anti–CD38 x CD28 x CD3. La **FIG. 21C** muestra la liberación IL6 en animales que reciben el anticuerpo triespecífico anti–CD38 x CD28 x CD3 6 horas después de cada dosis por animal individual. La **FIG. 21D** muestra la liberación IL10 en los animales que reciben el anticuerpo triespecífico anti–CD38 x CD28 x CD3 6 horas después de cada dosis por animal individual. La **FIG. 21E** muestra la liberación de TNFα en animales que reciben el anticuerpo triespecífico anti–CD38 x CD28 x CD3. La **FIG. 21F** muestra la liberación de IFNγ en animales que reciben el anticuerpo triespecífico anti–CD38 x CD28 x CD3 6 horas después de cada dosis por animal individual.

Las **FIGS. 22A–22C** muestran la actividad antitumoral *in vivo* del anticuerpo triespecífico de IgG4 anti–CD38 x CD28 x CD3 (Proteína de unión 5) en el modelo de ratón NSG humanizado con células sanguíneas del cordón umbilical CD34+ implantados con células de mieloma múltiple RPMI–8226 transducidas con CD38 y PD–L1. Como un estudio piloto, este experimento determinó el rango de dosis de trabajo para la proteína de unión 5. La **FIG. 22A** muestra la curva de crecimiento tumoral *in vivo* en grupos de las concentraciones indicadas de la proteína de unión triespecífica anti–CD38 x CD28 x CD3 o controles. La **FIG. 22B** muestra células T CD8+ humanas infiltrantes del tumor en ratones tratados con la proteína de unión triespecífica anti–CD38 x CD28 x CD3 o los controles indicados. La **FIG. 22C** muestra células T CD4+ humanas infiltrantes del tumor en ratones tratados con la proteína de unión triespecífica anti–CD38 x CD28 x CD3 o los controles indicados.

Las **FIGS. 23A–23D** muestran la actividad *in vivo* del anticuerpo triespecífico de IgG4 anti–CD38 x CD28 x CD3 (Proteína de unión 5) en el modelo de ratón NSG

humanizado con células sanguíneas del cordón umbilical CD34+ implantados con células RPMI–8226 transducidas con CD38 y PD–L1. La **FIG. 23A** muestra el cambio en el peso corporal de ratones tratados con las concentraciones indicadas de la proteína de unión triespecífica anti–CD38 x CD28 x CD3 o control PBS. La **FIG. 23B** muestra el cambio en el volumen tumoral en los ratones tratados con las concentraciones indicadas de la proteína de unión triespecífica anti–CD38 x CD28 x CD3 o control PBS. La **FIG. 23C** muestra los volúmenes tumorales de cada grupo al día 19. Los volúmenes tumorales de todos los grupos tratados mostraron una reducción marcada, que es estadísticamente diferente del grupo de control de PBS. La **FIG. 23D** muestra la concentración sérica de citoquinas inflamatorias IFN–g, TNF e IL–2 en ratones cuatro horas después de la primera dosis de las concentraciones indicadas de la proteína de unión triespecífica anti–CD38 x CD28 x CD3 o control PBS.

Las **FIGS. 24 & 25** muestra la actividad in vivo de las células T en el modelo de ratón NSG humanizado con células sanguíneas del cordón umbilical CD34+ mediante la administración de un anticuerpo triespecífico de IgG4 anti–CD38 x CD28 x CD3 (Proteína de unión 5; triángulos), un anticuerpo biespecífico IgG4 anti–CD28 x CD3 (cuadrados), o un anticuerpo IgG4 anti–CD28 (círculos) mediante la determinación del aumento en el porcentaje de las células T $CD69^+$. La **FIG. 24** muestra la actividad in vivo de las células T $CD4^+$. La **FIG. 25** muestra la actividad in vivo de las células T $CD8^+$.

Las **FIGS. 26A–26C** muestran la actividad in vivo de las células T en el modelo de ratón NSG humanizado con células sanguíneas del cordón umbilical CD34+ mediante la administración de un anticuerpo triespecífico de IgG4 anti–CD38 x CD28 x CD3 (Proteína de unión 5; triángulos), un anticuerpo biespecífico IgG4 anti–CD28 x CD3 (cuadrados), o un anticuerpo IgG4 anti–CD28 (círculos) mediante la determinación de los niveles séricos de las citoquinas inflamatorias. La **FIG. 26A** muestra los niveles séricos de IL–2. La **FIG. 26B** muestra los niveles séricos de TNF. La **FIG. 26C** muestra los niveles séricos de IFN–γ.

Las **FIGS. 27A & 27B** muestra la purificación de las proteínas indicadas por cromatografía de exclusión por tamaño. La **FIG. 27A** muestra la purificación de las proteínas de unión 9–15 por cromatografía de exclusión por tamaño. La **FIG. 27B** muestra la purificación de las proteínas de unión 16–19 por cromatografía de exclusión por tamaño.

La **FIG. 28A** describe la proteína de unión triespecífica usada en experimentos para optimizar un esquema de purificación y configuración de características de proteína de unión opcionales (por ejemplo, cadenas ligeras kappa/lambda, mutaciones botón/ojal y mutaciones H435R/Y436F). La **FIG. 28B** muestra cada una de las configuraciones analizadas.

La **FIG. 29** muestra cromatogramas representativos de la cromatografía de interacción hidrofóbica analítica (HIC), lo que demuestra que las proteínas de unión triespecíficas se distinguen de las especies mal apareadas.

Las **FIGS. 30A & 30B** muestran la purificación exitosa de una proteína de unión con cadena ligera lambda para la rama CODV, cadena ligera kappa para la rama Fab, mutaciones botón en la rama CODV, mutaciones en el ojal en la rama Fab y mutaciones RF en la rama Fab por Proteína A seguido por etapas de purificación KappaSelect (GE Healthcare). La purificación exitosa de la proteína de unión de especies mal apareadas se demostró por cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC, **Figura 30A**) y SDS–PAGE (**Figura 30B**).

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La descripción proporciona proteínas de unión triespecíficas y/o trivalentes que comprenden cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión al antígeno que se unen específicamente a una o más proteínas diana, donde un primer par de polipéptidos que forman la proteína de unión poseen dominios variables duales que tienen una orientación cruzada donde un segundo par de polipéptidos que forman la proteína de unión posee un dominio variable único.

Definiciones generales

Como se utiliza de acuerdo con la presente descripción, se entenderá que los siguientes términos, al menos que se indique de otro modo, tienen los siguientes significados. Al menos que se requiera lo contrario por contexto, los términos singulares incluirán pluralidades y los términos plurales incluirán lo singular.

El término "polinucleótido" como se usa en la presente se refiere a polímeros de ácido nucleico de cadena simple o cadena doble de al menos 10 nucleótidos de longitud. En ciertas realizaciones, los nucleótidos que comprenden el polinucleótido pueden ser ribonucleótidos o desoxirribonucleótidos o una forma modificada de cualquiera de los dos tipos de nucleótidos. Tales modificaciones incluyen modificaciones de bases tales como bromuridina, modificaciones de ribosa tales como arabinósido y 2',3'–didesoxirribosa, y modificaciones del enlace internucleotídico tales como fosforotioato, fosforoditioato, fosforoselenoato, fosforodiselenoato, fosforoanotioato, fosforaniladato y fosforoamidato. El término "polinucleótido" incluye específicamente las formas de ADN de cadena simple y cadena doble.

Un “polinucleótido aislado” es un polinucleótido de origen genómico, ADNc o sintético o alguna combinación de estos, que: (1) no está asociado con la totalidad o una porción de un polinucleótido en el que el polinucleótido aislado se encuentra en la naturaleza, (2) está ligado a un polinucleótido al cual no está ligado en la naturaleza, o (3) no ocurre en la naturaleza como parte de una secuencia más grande.

Un "polipéptido aislado" es uno que: (1) está libre de al menos algunos otros polipéptidos con los que normalmente se puede encontrar, (2) está esencialmente libre de otros polipéptidos de la misma fuente, por ejemplo, de la misma especie, (3) se expresa en una célula de una especie diferente, (4) se ha separado de al menos aproximadamente 50 por ciento de polinucleótidos, lípidos, carbohidratos u otros materiales con los cuales está asociado en la naturaleza, (5) no está asociado (por interacción covalente o no covalente) con porciones de un polipéptido con el cual el "polipéptido aislado" está asociado en la naturaleza, (6) está asociado operativamente (por interacción covalente o no covalente)

con un polipéptido con el cual no está asociado en la naturaleza, o (7) no se produce en la naturaleza. Tal polipéptido aislado se puede codificar por ADN genómico, ADNc, ARNm u otro ARN, de origen sintético, o cualquier combinación de estos. Con preferencia, el polipéptido aislado está sustancialmente libre de polipéptidos u otros contaminantes que se encuentran en su ambiente natural que pueden interferir en su uso (terapéutico, diagnóstico, profiláctico, de investigación o de otro tipo).

Los anticuerpos naturales típicamente comprenden un tetrámero. Cada uno de tales tetrámeros está compuesto típicamente de dos pares idénticos de cadenas polipeptídicas, cada par tiene una cadena "ligera" de longitud completa (típicamente con un peso molecular de aproximadamente 25 kDa) y una cadena "pesada" de longitud completa (que tiene un peso molecular de aproximadamente 50–70 kDa). Los términos "cadena pesada" y "cadena ligera" como se usan en la presente se refieren a cualquier polipéptido de inmunoglobulina que tiene una secuencia de dominio variable suficiente para conferir especificidad para un antígeno blanco. La porción amino–terminal de cada cadena ligera y pesada incluye típicamente un dominio variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos que normalmente es responsable del reconocimiento del antígeno. La porción carboxi–terminal de cada cadena define típicamente un dominio constante responsable de la función efectora. De este modo, en un anticuerpo natural, un polipéptido de inmunoglobulina de cadena pesada de longitud completa incluye un dominio variable (V_H) y tres dominios constantes (C_{H1}, C_{H2}, y C_{H3}), donde el dominio V_H está en el extremo amino del polipéptido y el dominio C_{H3} está en el extremo carboxilo terminal y un polipéptido de inmunoglobulina de cadena ligera de longitud completa incluye un dominio variable (V_L) y un dominio constante (C_L), en el que el dominio V_L está en el extremo amino terminal del polipéptido y el dominio C_L está en el extremo carboxilo terminal.

Las cadenas ligeras humanas se clasifican típicamente como cadenas ligeras kappa y lambda, y las cadenas pesadas humanas se clasifican típicamente como mu, delta, gamma, alfa o épsilon, y definen el isotipo del anticuerpo como IgM, IgD, IgG, IgA e IgE,

respectivamente. IgG tiene varias subclases, que incluyen, pero sin limitación, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. IgM tiene subclases que incluyen, pero sin limitación, IgM1 e IgM2. IgA se subdivide de forma similar en subclases que incluyen, pero sin limitación, IgA1 e IgA2. Dentro de las cadenas ligeras y pesadas de longitud completa, los dominios variable y constante típicamente están unidos por una región "J" de aproximadamente 12 o más aminoácidos, la cadena pesada que también incluye una región "D" de aproximadamente 10 aminoácidos más. *Ver, por ejemplo*, FUNDAMENTAL IMMUNOLOGY (Paul, W., ed., Raven Press, 2nd ed., 1989), que se incorpora por referencia en su totalidad para todos los propósitos. Las regiones variables de cada par de cadenas ligeras/pesadas forman típicamente un sitio de unión al antígeno. Los dominios variables de los anticuerpos naturales presentan típicamente la misma estructura general de regiones estructurales (FR) relativamente conservadas unidas por tres regiones hipervariables, también denominadas regiones determinantes de complementariedad o CDR. Las CDR de las dos cadenas de cada par típicamente están alineadas por las regiones estructurales, que pueden permitir la unión a un epítopo específico. Desde el extremo amino hasta el extremo carboxilo terminal, tanto los dominios variables de la cadena ligera como los de la cadena pesada comprenden típicamente los dominios FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4.

La expresión "conjunto CDR" se refiere a un grupo de tres CDR que se producen en una región variable única capaz de unirse al antígeno. Los límites exactos de estas CDR se han definido de manera diferente de acuerdo con los diferentes sistemas. El sistema descrito por Kabat (Kabat *et al*., SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) y (1991)) no solo proporciona un sistema de numeración de restos inequívoco aplicable a cualquier región variable de un anticuerpo sino que también proporciona límites de restos precisos que definen las tres CDRs. Estas CDR se pueden denominar como CDR de Kabat. Chothia y colaboradores (Chothia y Lesk, 1987, *J. Mol. Biol*. 196: 901–17; Chothia *et al*., 1989, *Nature* 342: 877–83) hallaron que ciertas sub–porciones dentro de las CDR de Kabat adoptan conformaciones

de esqueleto de péptido casi idénticas, a pesar de tener una gran diversidad en el nivel de la secuencia de aminoácidos. Estas subporciones se denominaron L1, L2, y L3 o H1, H2, y H3 donde la "L" y la “H" designan las regiones de cadena ligera y de cadena pesada, respectivamente. Estas regiones se pueden denominar como CDR de Chothia que tienen límites que se superponen con las CDR de Kabat. Otros límites que definen CDRs que se superponen con las CDR de Kabat se han descrito en Padlan, 1995, *FASEB J*. 9: 133–39; MacCallum, 1996, *J. Mol. Biol*. 262(5): 732–45; y Lefranc, 2003, *Dev. Comp. Immunol*. 27: 55–77. Otras definiciones de límites de CDR más no pueden seguir estrictamente uno de los sistemas de la presente, pero sin embargo se superpondrán con las CDR de Kabat, aunque pueden estar acortados o alargados a la luz de la predicción o hallazgos experimentales de que restos o grupos de restos particulares o incluso CDRs enteras no afectan significativamente la unión al antígeno. Los métodos usados en la presente pueden utilizar CDR definidas de acuerdo con cualquiera de estos sistemas, aunque ciertas realizaciones usan CDRs de Kabat o Chothia definidas. La identificación de las CDRs predichas usando la secuencia de aminoácidos es bien conocida en el campo, tal como en Martin, A.C. "Protein sequence y structure analysis of antibody variable domains," *In Antibody Engineering*, Vol. 2. Kontermann R., Dübel S., eds. Springer–Verlag, Berlin, p. 33–51 (2010). La secuencia de aminoácidos del dominio variable de cadena pesada y/o ligera se puede inspeccionar también para identificar las secuencias de las CDR por otros métodos convencionales, por ejemplo, por comparación con secuencias de aminoácidos conocidas de otras regiones variables de cadena pesada y ligera para determinar las regiones de hipervariabilidad de secuencia. Las secuencias numeradas se pueden alinear a la vista, o empleando un programa de alineamiento tal como uno del conjunto de programas CLUSTAL, como se describe en Thompson, 1994, *Nucleic Acids Res*. 22: 4673–80. Los modelos moleculares se utilizan convencionalmente para delinear correctamente la estructura y las regiones CDR y, por tanto, corregir las asignaciones basadas en secuencias.

El término "Fc" tal como se usa en la presente se refiere a una molécula que comprende la secuencia de un fragmento de no unión al antígeno resultante de la digestión de un anticuerpo o producido por otros medios, ya sea en forma monomérica o multimérica, y puede contener la región bisagra. La fuente de inmunoglobulina original de Fc nativa con preferencia es de origen humano y puede ser cualquiera de las inmunoglobulinas, aunque se prefieren IgG1 e IgG2. Las moléculas de Fc están constituidas por polipéptidos monoméricos que se pueden unir en formas diméricas o multiméricas mediante asociación covalente (es decir, en laces disulfuro) y no covalente. El número de en laces disulfuro intermoleculares entre subunidades monoméricas de las moléculas Fc nativas varía de 1 a 4 de acuerdo con la clase (por ejemplo, IgG, IgA, e IgE) o subclase (por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgA1 e IgGA2). Un ejemplo de una Fc es un dímero unido a disulfuro resultante de la digestión con papaína de una IgG. El término "Fc nativa" como se usa en la presente es genérico para las formas monoméricas, diméricas y multiméricas.

Un fragmento F (ab) incluye típicamente una cadena ligera y los dominios V_H y C_{H1} de una cadena pesada, en donde la porción de cadena pesada V_H–C_{H1} del fragmento F (ab) no puede formar un en lace disulfuro con otro polipéptido de cadena pesada. Como se usa en la presente, un fragmento F (ab) puede incluir también una cadena ligera que contiene dos dominios variables separados por un ligador de aminoácidos y una cadena pesada que contiene dos dominios variables separados por un ligador de aminoácidos y un dominio C_{H1}.

Un fragmento AF (ab') típicamente incluye una cadena ligera y una porción de una cadena pesada que contiene más de la región constante (entre los dominios C_{H1} y C_{H2}), de manera que puede formarse un en lace disulfuro intercatenario entre dos cadenas pesadas para formar una molécula F $(ab')_2$.

La expresión “proteína de unión”, tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a una molécula no natural (o recombinante o modificada genéticamente) que se une específicamente a al menos un antígeno blanco y que comprende cuatro cadenas

polipeptídicas que forman al menos tres sitios de unión al antígeno, en donde una primera cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}– C_{H1} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}– C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada C_{H1} de inmunoglobulina; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

y en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada.

Una molécula "recombinante" es una molécula que ha sido preparada, expresada, creada o aislada por medios recombinantes.

Una realización de la descripción proporciona proteínas de unión que tienen especificidad biológica e inmunológica entre uno y tres antígenos blanco. Otra realización de la descripción proporciona moléculas de ácido nucleico que comprenden secuencias de nucleótidos que codifican cadenas polipeptídicas que forman tales proteínas de unión. Otra

realización de la descripción proporciona vectores de expresión que comprenden moléculas de ácido nucleico que comprenden secuencias de nucleótidos que codifican cadenas polipeptídicas que forman tales proteínas de unión. Todavía otra realización de la descripción proporciona células huésped que expresan tales proteínas de unión (*es decir*, que comprenden moléculas de ácido nucleico o vectores que codifican cadenas polipeptídicas que forman tales proteínas de unión).

La expresión "capacidad de intercambio" como se usa en la presente se refiere a la intercambiabilidad de dominios variables dentro del formato de proteína de unión y con la retención del plegamiento y la afinidad de unión final. La "capacidad de intercambio total" se refiere a la capacidad de intercambiar el orden de los dominios V_{H1} y V_{H2}, y por los tanto el orden de los dominios V_{L1} y V_{L2}, en la cadena polipeptídica de fórmula I o la cadena polipeptídica de fórmula II (es decir, para invertir el orden) mientras que se mantiene la funcionalidad completa de la proteína de unión como se evidencia por la retención de la afinidad de unión. Además, se debe observar que las designaciones V_H y V_L se refieren solo a la ubicación del dominio en una cadena proteica particular en el formato final. Por ejemplo, V_{H1} y V_{H2} se pueden derivar de los dominios V_{L1} y V_{L2} en anticuerpos originales y colocar en las posiciones V_{H1} y V_{H2} en la proteína de unión. Del mismo modo, V_{L1} y V_{L2} se pueden derivar de los dominios V_{H1} y V_{H2} de los anticuerpos originales y colocar en las posiciones V_{H1} y V_{H2} en la proteína de unión. Por lo tanto, las designaciones V_H y V_L se refieren a la ubicación presente y no a la ubicación original en un anticuerpo original. Por lo tanto, los dominios V_H y V_L son "intercambiables".

El término "antígeno" o "antígeno blanco" o "blanco de antígeno" como se usa en la presente se refiere a una molécula o una porción de una molécula que es capaz de estar unida por una proteína de unión y además se puede usar en un animal para producir anticuerpos capaces de unirse a un epítopo de ese antígeno. Un antígeno blanco puede tener uno o más epítopos. Con respecto a cada antígeno blanco reconocido por una

proteína de unión, la proteína de unión es capaz de competir con un anticuerpo intacto que reconoce el antígeno blanco.

El término "Her2" se refiere al receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano que es un miembro de la familia del receptor del factor de crecimiento epidérmico.

"CD3" es el clúster del polipéptido del factor de diferenciación 3 y es proteína de superficie de las células T que es típicamente parte del complejo del receptor de células T (TCR).

"CD28" es el clúster del polipéptido de diferenciación 28 y es una proteína de superficie de las células T que proporciona señales coestimuladoras para la activación y supervivencia de las células T.

"CD19" es el clúster del polipéptido de diferenciación 19 y se ubica en las células B.

"CD20" es el clúster del polipéptido de diferenciación 20 y es una fosfoproteína glicosilada activada expresada en la superficie de las células B.

"CD38" es el clúster del polipéptido de diferenciación 38 y es una glicoproteína hallada en la superficie de muchos células inmunológicas.

"LAMP1" es la proteína de membrana 1 asociada a los lisosomas. "IL–4" es interleuquina 4 y es una citoquina que induce la diferenciación de células T auxiliares naíf.

La "IL–13" es la interleuquina 13 y es una citoquina secretada por muchos tipos celulares tales como células T.

"TNFa" es el factor de necrosis tumoral alfa y es una citoquina implicada en la inflamación sistemática.

La expresión "acoplador de células T" se refiere a proteínas de unión dirigidas al sistema inmunitario de un huésped, más específicamente a la actividad citotóxica de las células T, así como dirigidas a una proteína diana de tumor.

La expresión "proteína de unión monoespecífica" se refiere a una proteína de unión

que se une específicamente a una blanco de antígeno. El término "proteína de unión monovalente" se refiere a una proteína de unión que tiene un sitio de unión al antígeno.

La expresión "proteína de unión biespecífica" se refiere a una proteína de unión que se une específicamente a dos dianas de antígeno diferentes.

La expresión "proteína de unión bivalente" se refiere a una proteína de unión que tiene dos sitios de unión.

La expresión "proteína de unión triespecífica" se refiere a una proteína de unión que se une específicamente a tres dianas de antígeno diferentes.

La expresión "proteína de unión trivalente" se refiere a una proteína de unión que tiene tres sitios de unión. En realizaciones particulares la proteína de unión trivalente se puede unir a un blanco de antígeno. En otras realizaciones, la proteína de unión trivalente se puede unir a dos dianas de antígeno. En otras realizaciones, la proteína de unión trivalente se puede unir a tres dianas de antígeno.

Una proteína de unión "aislada" es la se ha identificado y separado y/o recuperado de un componente de su ambiente natural. Los componentes contaminantes de su ambiente natural son materiales que pueden interferir en los usos diagnósticos o terapéuticos para la proteína de unión, y pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteínicos o no proteínicos. En algunas realizaciones, la proteína de unión se purificará: (1) hasta más del 95% en peso de anticuerpo según se determina por el método de Lowry, y con máxima preferencia más de 99% en peso, (2) hasta un grado suficiente para obtener al menos 15 restos de la secuencia de aminoácidos N–terminal o interna mediante el uso de un secuenciador de copa giratoria, o (3) hasta la homogeneidad mediante SDS–PAGE en condiciones reductoras o no reductoras usando azul Coomassie o, con preferencia, tinción con plata. Las proteínas de unión aisladas incluyen la proteína de unión *in situ* dentro de células recombinantes ya que al menos un componente del ambiente natural de la proteína de unión no estará presente.

Las expresiones "sustancialmente puro" o "sustancialmente purificado" como se usa en la presente se refieren a un compuesto o especie que es la especie predominante presente (es decir, sobre una base molar es más abundante que cualquier otra especie individual en la composición). En algunas realizaciones, una fracción sustancialmente purificada es una composición en la que la especie comprende al menos aproximadamente el 50% (en una base molar) de todas las especies macromoleculares presentes. En otras realizaciones, una composición sustancialmente pura comprenderá más de aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95% o 99% de todas las especies macromolares presentes en la composición. En otras realizaciones, la especie se purifica hasta obtener una homogeneidad esencial (las especies contaminantes no se pueden detectar en la composición mediante métodos de detección convencionales) en donde la composición consiste esencialmente en una única especie macromolecular.

Una proteína de unión "neutralizante", como se usa en la presente, se refiere a una molécula que es capaz de bloquear o reducir sustancialmente una función efectora de un antígeno blanco al que se une. Como se usa en la presente, "reduce sustancialmente" significa que al menos aproximadamente 60%, con preferencia al menos aproximadamente 70%, con más preferencia al menos aproximadamente 75%, aun con más preferencia al menos aproximadamente 80%, aun con más preferencia al menos aproximadamente 85%, con máxima preferencia al menos aproximadamente 90% de reducción de una función efectora del antígeno blanco.

El término “epítopo” incluye cualquier determinante, con preferencia un determinante polipéptido, capaz de unirse específicamente a una inmunoglobulina o receptor de células T. En ciertas realizaciones, los determinantes de epítopos incluyen agrupaciones de moléculas químicamente activas tales como aminoácidos, cadenas laterales de azúcar, grupos fosforilo o grupos sulfonilo y, en ciertas realizaciones, pueden tener características estructurales tridimensionales específicas y/o características de carga específicas. Un epítopo es una región de un antígeno que está unido por un anticuerpo o

proteína de unión. En ciertas realizaciones, se dice que una proteína de unión se une específicamente a un antígeno cuando reconoce preferentemente su antígeno blanco en una mezcla compleja de proteínas y/o macromoléculas. En algunas realizaciones, se dice que una proteína de unión se une específicamente a un antígeno cuando la constante de disociación de equilibrio es ≤ 10^{-8} M, con más preferencia cuando la constante de disociación de equilibrio ≤ 10^{-9} M, y con máxima preferencia cuando la constante de disociación de equilibrio ≤ 10^{-10} M.

La constante de disociación (K_D) de una proteína de unión se puede determinar, por ejemplo, por resonancia de plasmón superficial. Generalmente, el análisis de resonancia de plasmón superficial mide las interacciones de unión en tiempo real entre el ligando (un antígeno blanco sobre una matriz de biosensor) y el analito (una proteína de unión en solución) por resonancia de plasmón de superficie (SPR) usando el sistema BIAcore (Pharmacia Biosensor, Piscataway, NJ). El análisis de plasmón de superficie también se puede realizar mediante la inmovilización del analito (proteína de unión en una matriz de biosensor) y presentación del ligando (antígeno blanco). El término "K_D", como se usa en la presente, se refiere a la constante de disociación de la interacción entre una proteína de unión particular y un antígeno blanco.

La expresión "se une específicamente" como se usa en la presente se refiere a la capacidad de una proteína de unión o un fragmento de unión al antígeno de este para unirse a un antígeno que contiene un epítopo con un Kd de al menos aproximadamente 1 x 10^{-6} M, 1 x 10^{-7} M, 1 x 10^{-8} M, 1 x 10^{-9} M, 1 x 10^{-10} M, 1 x 10^{-11} M, 1 x 10^{-12} M, o más y/o para unirse a un epítopo con una afinidad que es al menos dos veces mayor que su afinidad por un antígeno no específico.

El término "ligador" tal como se usa en la presente se refiere a uno o más restos de aminoácidos insertados entre dominios de inmunoglobulina para proporcionar suficiente movilidad para que los dominios de las cadenas ligera y pesada se plieguen en las inmunoglobulinas de región variable dual. Se inserta un ligador en la transición entre

dominios variables o entre dominios variables y constantes, respectivamente, en el nivel de secuencia. La transición entre dominios se puede identificar porque el tamaño aproximado de los dominios de inmunoglobulina está bien entendido. La localización precisa de una transición de dominio se puede determinar mediante la ubicación de extensiones peptídicos que no forman elementos estructurales secundarios tales como hojas beta o alfa–hélices como se demuestra mediante datos experimentales o como se puede asumir por técnicas de modelado o predicción de estructura secundaria. Los ligadores descritos en la presente se denominan L_1, que está ubicada en la cadena ligera entre el extremo C–terminal del V_{L2} y el extremo N terminal de dominio V_{L1}; y L_2, que está ubicado en la cadena ligera entre el extremo C–terminal del V_{L1} y el extremo N–terminal del dominio C_L. Los ligadores de cadena pesada se conocen como L_3, que está ubicado entre el extremo C–terminal del V_{H1} y el extremo N–terminal del dominio V_{H2}; y L_4, que está ubicado entre el extremo C–terminal del V_{H2} y el extremo N–terminal del dominio C_{H1}.

El término "vector" como se usa en la presente se refiere a cualquier molécula (por ejemplo, ácido nucleico, plásmido o virus) que se utiliza para transferir información de codificación a una célula huésped. El término "vector" incluye una molécula de ácido nucleico que es capaz de transportar otro ácido nucleico al que se ha unido. Un tipo de vector es un "plásmido", que se refiere a una molécula de ADN circular de cadena doble en la que se pueden insertar segmentos de ADN adicionales. Otro tipo de vector es un vector viral, donde se pueden insertar segmentos de ADN adicionales en el genoma viral. Ciertos vectores son capaces de replicación autónoma en una célula huésped en la que se introducen (v.g., vectores bacterianos que tienen un origen bacteriano de replicación y vectores de mamíferos episómicos). Otros vectores (por ejemplo, vectores de mamíferos no episómicos) se pueden integrar en el genoma de una célula huésped después de la introducción en la célula huésped y por lo tanto se replican junto con el genoma del huésped. Además, ciertos vectores son capaces de dirigir la expresión de genes a los que están unidos operativamente. Tales vectores se denominan en la presente como "vectores

de expresión recombinantes" (o simplemente, "vectores de expresión"). En general, los vectores de expresión de utilidad en técnicas de ADN recombinante están a menudo en forma de plásmidos. Los términos "plásmido" y "vector" se pueden usar indistintamente en la presente, ya que un plásmido es la forma de vector más comúnmente usada. Sin embargo, se pretende que la descripción incluya otras formas de vectores de expresión, tales como vectores virales (por ejemplo, retrovirus defectuosos de replicación, adenovirus y virus adenoasociados) que cumplen funciones equivalentes.

La frase "célula huésped recombinante" (o "célula huésped") como se usa en la presente se refiere a una célula en la que se ha introducido un vector de expresión recombinante. Se considera que una célula huésped recombinante o célula huésped se refiera no solo a la célula en cuestión particular, sino también a la progenie de tal célula. Debido a que ciertas modificaciones pueden ocurrir en generaciones posteriores debido a mutaciones o influencias ambientales, tal progenie no puede, en efecto, ser idéntica a la célula progenitora, pero tales células todavía están incluidas dentro del alcance del término "célula huésped" como se usa en la presente. Se puede usar una amplia variedad de sistemas de expresión de células huésped para expresar las proteínas de unión, que incluyen sistemas de expresión bacterianos, de levaduras, baculovirales y mamíferos (así como sistemas de expresión de despliegue en fagos). Un ejemplo de un vector de expresión bacteriano adecuado es pUC19. Para expresar una proteína de unión de forma recombinante, una célula huésped se transforma o transfecta con uno o más vectores de expresión recombinantes que portan fragmentos de ADN que codifican las cadenas polipeptídicas de la proteína de unión de tal manera que las cadenas polipeptídicas se expresan en la célula huésped, y con preferencia se secretan en el medio en el que se cultivan las células huésped, de cuyo medio se puede recuperar la proteína de unión.

El término "transformación" como se usa en la presente se refiere a un cambio en las características genéticas de una célula, y una célula se ha transformado cuando se ha modificado para contener un nuevo ADN. Por ejemplo, una célula se transforma cuando se

modifica genéticamente de su estado nativo. Después de la transformación, el ADN transformante se puede recombinar con el de la célula mediante la integración física en un cromosoma de la célula, o se puede mantener transitoriamente como un elemento episódico sin replicarse, o se puede replicar independientemente como un plásmido. Se considera que una célula se ha transformado establemente cuando el ADN se replica con la división de la célula. El término "transfección" como se usa en la presente se refiere a la captación de ADN exógeno o extraño por una célula, y una célula se ha "transfectado" cuando el ADN exógeno se ha introducido dentro de la membrana celular. Una serie de técnicas de transfección son bien conocidas en la materia. Tales técnicas se pueden usar para introducir una o más moléculas de ADN exógeno en células huésped adecuadas.

El término "natural" como se usa en la presente y aplicado a un objeto se refiere al hecho de que el objeto se puede encontrar en la naturaleza y no ha sido manipulado por el hombre. Por ejemplo, un polinucleótido o polipéptido que está presente en un organismo (incluyendo virus) que se puede aislar de una fuente en la naturaleza y que no ha sido intencionalmente modificado por el hombre es natural. De forma similar, "no natural" como se usa en la presente se refiere a un objeto que no se encuentra en la naturaleza o que ha sido estructuralmente modificado o sintetizado por el hombre.

Como se usa en la presente, los veinte aminoácidos convencionales y sus abreviaturas siguen el uso convencional. Los estereoisómeros (por ejemplo, D–aminoácidos) de los veinte aminoácidos convencionales; aminoácidos no naturales y análogos tales como aminoácidos α,α–disustituido, N–alquilaminoácidos, ácido láctico y otros aminoácidos no convencionales también pueden ser componentes adecuados para las cadenas polipeptídicas de las proteínas de unión. Los ejemplos de aminoácidos no convencionales incluyen: 4–hidroxiprolina, γ–carboxiglutamato, ε–N,N,N–trimetillisina, ε–N–acetillisina, O–fosfoserina, N–acetilserina, N–formilmetionina, 3–metilhistidina, 5–hidroxilisina, σ–N–metilarginina, y otros aminoácidos o aminoácidos similares (por ejemplo, 4–hidroxiprolina). En la notación de polipéptidos usada en la presente, la dirección de la

izquierda es la dirección del amino terminal y la dirección de la derecha es la dirección del carboxilo terminal, de acuerdo con el uso y la convención estándar.

Los restos naturales se pueden dividir en clases basadas en propiedades de la cadena lateral común:

(1) hidrofóbicos: Met, Ala, Val, Leu, Ile, Phe, Trp, Tyr, Pro;

(2) hidrofílicos polares: Arg, Asn, Asp, Gln, Glu, His, Lys, Ser, Thr;

(3) alifáticos: Ala, Gly, Ile, Leu, Val, Pro;

(4) hidrofóbicos alifáticos: Ala, Ile, Leu, Val, Pro;

(5) hidrofílicos neutros: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

(6) ácidos: Asp, Glu;

(7) básicos: His, Lys, Arg;

(8) restos que influyen la orientación de la cadena: Gly, Pro;

(9) aromático: His, Trp, Tyr, Phe; y

(10) hidrofóbico aromático: Phe, Trp, Tyr.

Las sustituciones de aminoácidos conservadoras pueden implicar el intercambio de un miembro de una de estas clases con otro miembro de la misma clase. Las sustituciones no conservadoras pueden implicar el intercambio de un miembro de una de estas clases por un miembro de otra clase.

Un experto en la técnica será capaz de determinar variantes adecuadas de las cadenas polipeptídicas de las proteínas de unión usando técnicas bien conocidas. Por ejemplo, un experto en la técnica puede identificar áreas adecuadas de una cadena polipeptídica que se puede cambiar sin destruir actividad mediante regiones de direccionamiento que no se consideran importantes para la actividad. Alternativamente, un experto en la técnica puede identificar restos y porciones de las moléculas que están conservadas entre polipéptidos similares. Además, incluso las áreas que pueden ser importantes para la actividad biológica o para la estructura se pueden someter a

sustituciones conservadoras de aminoácidos sin destruir la actividad biológica o sin afectar negativamente a la estructura del polipéptido.

El término "paciente" como se usa en la presente incluye sujetos humanos y animales.

Los términos "tratamiento" o "tratar" como se usa en la presente se refieren tanto al tratamiento terapéutico como a medidas profilácticas o preventivas. Aquellos que necesitan tratamiento incluyen los que tienen un trastorno así como los propensos a tener el trastorno o aquellos en los que se debe prevenir el trastorno. En realizaciones particulares, las proteínas de unión se pueden usar para tratar seres humanos con cáncer, o seres humanos susceptibles al cáncer, o mejorar el cáncer en un sujeto humano. Las proteínas de unión también se pueden usar para prevenir el cáncer en un paciente humano. En realizaciones particulares, el cáncer es mieloma múltiple, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide aguda, linfoma, cáncer de mama tal como cáncer de mama Her2+, linfoma de células B del centro germinal o leucemia linfoblástica aguda de células B. En otras realizaciones, las proteínas de unión se pueden usar para tratar seres humanos con trastornos inflamatorios, o seres humanos susceptibles a trastornos inflamatorios, o para mejorar trastornos inflamatorios en un sujeto humano.

Las expresiones "composición farmacéutica" o "composición terapéutica" como se usa en la presente se refieren a un compuesto o composición capaz de inducir un efecto terapéutico deseado cuando se administra adecuadamente a un paciente.

La expresión "portador farmacéuticamente aceptable" o "portador fisiológicamente aceptable" como se usa en la presente se refiere a uno o más materiales de formulación adecuados para llevar a cabo o potenciar la administración de una proteína de unión.

Las expresiones "cantidad efectiva" y "cantidad terapéuticamente efectiva" cuando se usan en referencia a una composición farmacéutica que comprende una o más proteínas de unión se refieren a una cantidad o dosis suficiente para producir un resultado terapéutico deseado. Más específicamente, una cantidad terapéuticamente efectiva es una

cantidad de una proteína de unión suficiente para inhibir, durante algún período de tiempo, uno o más de los procesos patológicos definidos clínicamente asociados con la afección que se está tratando. La cantidad efectiva puede variar de acuerdo con la proteína de unión específica que se está usando, y también depende de una variedad de factores y afecciones relacionadas con el paciente que se está tratando y la gravedad del trastorno. Por ejemplo, si la proteína de unión se va a administrar in vivo, factores tal como edad, peso y salud del paciente, así como las curvas de dosis respuesta y los datos de toxicidad obtenidos en el trabajo preclínico con animales deben estar entre los factores considerados. La determinación de una cantidad efectiva o de una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica dada está dentro de la capacidad de los expertos en la técnica.

Una realización de la descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente efectiva de una proteína de unión.

Proteínas de unión triespecíficas y/o trivalentes

En una realización, la proteína de unión de la descripción es una proteína de unión triespecífica y/o trivalente que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno que específicamente unen uno o varios (por ejemplo, tres) diferentes dianas de antígenos o proteínas diana, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}–C_{H1} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

V_{L3}–C_L [IV]

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada C_{H1} de inmunoglobulina; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

y en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada.

En una realización, la proteína de unión de la descripción es una proteína de unión triespecífica y/o trivalente que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno que específicamente unen uno o varios (por ejemplo, tres) dianas de antígenos o proteínas diana, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L [I]

y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1} [II]

y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

V_{H3}–C_{H1} [III]

y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

V_{L3}–C_L [IV]

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada C_{H1} de inmunoglobulina; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

y en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada.

En una realización, la proteína de unión de la descripción es una proteína de unión triespecífica y/o trivalente que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno que específicamente unen uno o varios (por ejemplo, tres) diferentes dianas de antígenos o proteínas diana, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}– C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}– C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada C_{H1} de inmunoglobulina;

C_{H2} es un dominio constante de cadena pesada C_{H2} de inmunoglobulina;

C_{H3} es un dominio constante de cadena pesada C_{H3} de inmunoglobulina;

bisagra es una región bisagra de inmunoglobulina que conecta los dominios C_{H1} y C_{H2}; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

y en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada.

En una realización, la proteína de unión de la descripción es una proteína de unión triespecífica y/o trivalente que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno que específicamente unen uno o varios (por ejemplo, tres) dianas de antígenos o proteínas diana, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}– C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}– C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada C_{H1} de inmunoglobulina;

C_{H2} es un dominio constante de cadena pesada C_{H2} de inmunoglobulina;

C_{H3} es un dominio constante de cadena pesada C_{H3} de inmunoglobulina;

bisagra es una región bisagra de inmunoglobulina que conecta los dominios C_{H1} y C_{H2}; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

y en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica y la segunda cadena polipeptídica tienen una orientación cruzada que forma dos distintos sitios de unión a antígeno. En algunas realizaciones, VH1 y VL1 forman un par de unión y forman el primer sitio de unión a antígeno. En algunas realizaciones, VH2 y VL2 forman un par de unión y forman el segundo sitio de unión a antígeno. En algunas realizaciones, el tercer polipéptido y el cuarto polipéptido forman un tercer sitio de unión a antígeno. En algunas realizaciones, VH3 y VL3 forman un par de unión y forman el tercer sitio de unión a antígeno.

En una realización, la proteína de unión de la descripción es una proteína de unión triespecífica y/o trivalente que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígenos que se unen específicamente a uno o varios (por ejemplo, tres) antígenos diana o proteínas diana, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{D1}–L_1–V_{D2}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{D3}–L_3–V_{D4}–L_4–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}– C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}– C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{D1} es un dominio variable de cadena pesada o ligera de una primera inmunoglobulina;

V_{D2} es un dominio variable de cadena pesada o ligera de una segunda inmunoglobulina;

V_{D3} es un dominio variable de cadena pesada o ligera de una tercera inmunoglobulina;

V_{D4} es un dominio variable de cadena pesada o ligera de una cuarta inmunoglobulina;

V_{H3} es un dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{L3} es un dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina CH1;

C_{H2} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina CH2;

C_{H3} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina CH3;

bisagra es una región bisagra de inmunoglobulina que conecta los dominios CH1 y CH2; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

y en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada.

En algunas realizaciones, la proteína de unión de la descripción comprende tres sitios de unión a antígeno que específicamente unen uno, dos o tres dianas de antígenos o proteínas diana. En algunas realizaciones, la proteína de unión se une con tres dianas de antígenos. En algunas realizaciones, la proteína de unión se une con tres diferentes dianas de antígenos. En algunas realizaciones, dos de los sitios de unión a antígeno se unen con el mismo blanco de antígeno. In those realizaciones, la proteína de unión comprende los mismos dominios de unión dos veces, o diferentes dominios de unión, y/o se une específicamente a diferentes antígenos o epítopos en el mismo blanco de antígeno. En algunas realizaciones, tres de los sitios de unión a antígenos se unen con el mismo blanco de antígeno. En esas realizaciones, la proteína de unión comprende los mismos dominios de unión tres veces, o diferentes dominios de unión, y/o se une específicamente a diferentes antígenos o epítopos en el mismo blanco de antígeno.

En algunas realizaciones, V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} son cada uno, de modo independiente, un dominio variable derivado de una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 2, 4, 10, 14, 18, 22 ó 115; y $V_{H1,}$ V_{H2} y $V_{H3,}$ son cada uno, de modo independiente, un dominio variable derivado de una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 1, 3, 9, 13, 17, 21 ó 114. En otras realizaciones, V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} son cada uno, de modo independiente, un dominio variable derivado de una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 61, 63, 69, 71, 74, 76, 82, 86, 88 ó 94; y $V_{H1,}$ V_{H2} y $V_{H3,}$ son cada uno, de modo independiente, un dominio variable derivado de una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 60, 62, 68, 73, 75, 81, 85, 87 ó 93. En otras realizaciones, V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera de un dominio variable que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 43–59, 123–125; y $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno,

de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada de un dominio variable que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 25–42, 120–122. En otras realizaciones, V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera de un dominio variable que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 61, 63, 69, 71, 74, 76, 82, 86, 88 ó 94; y $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada de un dominio variable que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 60, 62, 68, 73, 75, 81, 85, 87 ó 93. En algunas realizaciones, V_{H1}, V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada y/o una secuencia de dominio variable mostrada en las tablas 2–5.

En algunas realizaciones, V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 169, 171 y 173; y/o $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 168, 170 y 172. En algunas realizaciones, $V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 50, 141–147, 178 y 179; y/o $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 129–137. En algunas realizaciones, V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165 y 167; y/o $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera

de las SEQ ID NOs: 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164 y 166. En algunas realizaciones, $V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera que comprenden una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 43–59, 123–125 y 138–140 y 149; y/o V_{H1}, V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada de un dominio variable que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 25–42, 120–122 y 126–128. En algunas realizaciones, $V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera y/o una secuencia de dominio variable mostrada en las tablas 2–5.

En particular realizaciones, el orden de los dominios V_{H1} y V_{H2} y, en consecuencia, el orden de los dominios V_{L1} y V_{L2}, en la cadena polipeptídica de la fórmula I o la cadena polipeptídica de la fórmula II (es decir, para revertir el orden) se intercambian.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 4; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 3; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 1; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 que opcionalmente

comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 2.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 9; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 1; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 2.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 4; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 3; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 o una secuencia

de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 13; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 14.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 9; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 13; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 14.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 4;

la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 3; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 17; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 18.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 9; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 17; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 que opcionalmente

comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 18.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 4; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 3; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 21; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 22.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 9; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 o una secuencia

de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 21; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 22.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 63; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 62; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 60; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 61.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO:

69; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 68; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 60; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 61.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 69; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 68; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 60; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71 que opcionalmente

comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 71.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 76; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 75; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 73; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 74.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 82; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:81 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 81; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 o una secuencia

de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 73; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 74.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 88 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 88 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 88; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 87 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 87 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 87; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 85; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 86.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 94 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 94 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO:

94; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 93 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 93 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 93; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 85; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 86.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 69; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 68; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 73; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 que opcionalmente

comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 74.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 69; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 68; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 85; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 86.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 63; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 62; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 o una secuencia

de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 73; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 74.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 63; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 62; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 85; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 86.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 4;

la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 3; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 114; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 115.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 9; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114 que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 114; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115 que opcionalmente

comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 115.

[0148] En otras realizaciones, la proteína de unión de la descripción es una proteína de unión triespecífica y/o trivalente que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno que se unen específicamente a una o varias (por ejemplo, tres) diferentes proteínas diana, en donde una primera cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3}\ \text{(ojal)} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3}\ \text{(botón)} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}–C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada C_{H1} de inmunoglobulina; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

y en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada.

En otras realizaciones, la proteína de unión de la descripción es una proteína de unión triespecífica y/o trivalente que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno que se unen específicamente a una o varias (por ejemplo, tres) proteínas diana, en donde una primera cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3}\ \text{(ojal)} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3}\ \text{(botón)} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica tiene una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}–C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada C_{H1} de inmunoglobulina; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

y en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada.

En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica y la segunda cadena polipeptídica tienen una orientación cruzada que forma dos distintos sitios de unión a antígeno. En algunas realizaciones, V_{H1} y V_{L1} forman un par de unión y forman el primer

sitio de unión a antígeno. En algunas realizaciones, V_{H2} y V_{L2} forman un par de unión y forman el segundo sitio de unión a antígeno. En algunas realizaciones, el tercer polipéptido y el cuarto polipéptido forman un tercer sitio de unión a antígeno. En algunas realizaciones, V_0 y VL3 forman un par de unión y forman el tercer sitio de unión a antígeno. En algunas realizaciones, la segunda cadena polipeptídica y la tercera cadena polipeptídica comprenden una o varias modificaciones. En algunas realizaciones, la segunda cadena polipeptídica y la tercera cadena polipeptídica de una proteína de unión son diferentes, por ejemplo, que tienen diferentes dominios C_{H1}, C_{H2}, y/o C_{H3} (tales como aquellos que incluyen una modificación descrita en la presente). En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica y la cuarta cadena polipeptídica comprenden una o varias modificaciones. En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica y la cuarta cadena polipeptídica de una proteína de unión son diferentes, por ejemplo, que tienen diferentes dominios C_L (tales como aquellos que incluyen una modificación descrita en la presente, y/o dominios C_L lambda vs. kappa).

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un sitio de unión a antígeno que comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:150, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 150, y/o un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:151, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 151. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un sitio de unión a antígeno que comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica

a la SEQ ID NO:152, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 152, y/o un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:153, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 153. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un sitio de unión a antígeno que comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:154, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 154, y/o un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:155, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 155. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un sitio de unión a antígeno que comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:156, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 156, y/o un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:157, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 157. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un sitio de unión a antígeno que comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica

a la SEQ ID NO:158, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 158, y/o un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:159, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 159. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un sitio de unión a antígeno que comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:160, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 160, y/o un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:161, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 161. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un sitio de unión a antígeno que comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:162, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 162, y/o un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:163, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 163. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un sitio de unión a antígeno que comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica

a la SEQ ID NO:164, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 164, y/o un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:165, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 165. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un sitio de unión a antígeno que comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:166, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 166, y/o un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:167, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 167. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un sitio de unión a antígeno que comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:168, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 168, y/o un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:169, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 169. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un sitio de unión a antígeno que comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica

a la SEQ ID NO:170, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 170, y/o un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:171, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 171. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un sitio de unión a antígeno que comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:172, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 172, y/o un dominio variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la SEQ ID NO:173, que opcionalmente comprende CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de la SEQ ID NO: 173.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción se une con una, dos o tres dianas de antígenos con una constante de disociación en el equilibrio (K_D) que es menor o igual que 1 µM, 500 nM, 100 nM, 50 nM, 10 nM, 5 nM o 1 nM. Los ensayos ilustrativos para determinar K_D son conocidos en la técnica. Por ejemplo, en algunas realizaciones, K_D se determina por medición de la cinética de unión entre 0ºC y 37ºC, por ejemplo, a 0ºC, 4ºC, 25ºC, o 37ºC) usando las técnicas descritas en el Ejemplo 1 (por ejemplo, SPR o ELISA).

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción activa células T CD4 y/o CD8 *in vitro* y/o induce la muerte celular in vitro mediada por anticuerpos de una célula que expresa una o varias dianas de antígenos de uno o varios dominios de unión de la proteína de unión. La muerte celular *in vitro* de ejemplos y los ensayos de activación de células T se conocen en la técnica. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la

muerte celular *in vitro* y/o la activación de células T se ensaya usando las técnicas descritas en el Ejemplo 1.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción se une específicamente y/o bloquea la señalización mediada por una o varias citoquinas. Los ensayos de liberación de citoquinas ilustrativas se conocen en la técnica. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la liberación de citoquina se ensaya usando las técnicas descritas en el Ejemplo 1.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana en células T, un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana en células T y un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una diana de antígeno o proteína diana. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana en células T, un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana en células T y un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana en células T humana, un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana en células T humana y un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral humano. En algunas realizaciones, el primer y el segundo sitio de unión a antígeno se unen específicamente con una proteína diana tumoral, por ejemplo, seleccionada de CD3 y CD28, respectivamente. En algunas realizaciones el primer y el segundo sitios de unión a antígeno se unen específicamente a una proteína diana tumoral seleccionada, por ejemplo, de CD28 y CD3, respectivamente. En algunas realizaciones, el tercer sitio de unión a antígeno se une específicamente a CD19, CD20, CD38, Her2 y LAMP1. Otros ejemplos de tales dianas de antígenos tumorales o proteínas diana

tumorales son proporcionan infra. Otros ejemplos de tales blancos y proteínas diana se proporcionan *infra*.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3, un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 y un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una diana de antígeno o proteína diana. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3 y un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una diana de antígeno o proteína diana. Otros ejemplos de tales dianas de antígenos o proteínas diana se proporcionan *infra*. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3, un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 y un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3 humana, un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 humana y un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral humana. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28, un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3, y un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 humano un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3 humano, y un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral humana. En algunas realizaciones, el tercer

sitio de unión a antígeno se une específicamente a CD19, CD20, CD38, Her2 o LAMP1. Otros ejemplos de such tumor antigen targets o tumor proteínas diana se proporcionan *infra*.

En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3 comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 152 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153; o un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155. Las secuencias de anticuerpos VH, VL y/o CDR adicionales que específicamente se unen con CD3 apropiadas para usar en cualquiera de las proteínas de unión descritas en la presente se pueden hallar en la publicación internacional N.º WO2016/116626, que se incorpora por referencia en la presente en su totalidad. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3 comprende seis CDRs, o un dominio variable de cadena pesada y de cadena ligera, mostrados en las tablas 2–5. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3 comprende (i) tres CDRs de cadena pesada de SEQ ID Nos. 34, 35 y 36, respectivamente y tres CDRs de cadena ligera de SEQ ID Nos. 52, 53 y 54, respectivamente; o (ii) tres CDRs de cadena pesada de SEQ ID Nos. 34, 35 y 36, respectivamente y tres CDRs de cadena ligera de SEQ ID Nos. 149, 53 y 54, respectivamente. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3 es parte de una cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3 que comprende opcionalmente CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de SEQ ID NO:3. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3 es parte de una cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4 o una secuencia de aminoácidos que es al

menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4 que comprende opcionalmente CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de SEQ ID NO:4.

En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 160 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 161; o un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 162 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 163. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 comprende six CDRs, o un dominio variable de cadena pesada y de cadena ligera, mostrados en las tablas 2–5. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 comprende (i) tres CDRs de cadena pesada de SEQ ID Nos. 28, 29 y 30, respectivamente y tres CDRs de cadena ligera de SEQ ID Nos. 46, 47 y 48, respectivamente; o (ii) tres CDRs de cadena pesada de SEQ ID Nos. 31, 32 y 33, respectivamente y tres CDRs de cadena ligera de SEQ ID Nos. 49, 50 y 51, respectivamente. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 es parte de una cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3 que comprende opcionalmente CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de SEQ ID NO:3. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 es parte de una cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4 que comprende opcionalmente CDRs que son 100% idénticas a las CDRs de la cadena polipeptídica de SEQ ID NO:4.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3, un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 y un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD38, o un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28, un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3 y un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD38 en donde:

- el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3 comprende (i) tres CDRs de cadena pesada de SEQ ID Nos. 34, 35 y 36, respectivamente y tres CDRs de cadena ligera de SEQ ID Nos. 52, 53 y 54, respectivamente; o (ii) tres CDRs de cadena pesada de SEQ ID Nos. 34, 35 y 36, respectivamente y tres CDRs de cadena ligera de SEQ ID Nos. 149, 53 y 54, respectivamente; y
- el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 comprende (i) tres CDRs de cadena pesada de SEQ ID Nos. 28, 29 y 30, respectivamente y tres CDRs de cadena ligera de SEQ ID Nos. 46, 47 y 48, respectivamente; o (ii) tres CDRs de cadena pesada de SEQ ID Nos. 31, 32 y 33, respectivamente y tres CDRs de cadena ligera de SEQ ID Nos. 49, 50 y 51, respectivamente; y

el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD38 comprende (i) tres CDRs de cadena pesada de SEQ ID Nos. 40, 41 y 42, respectivamente y tres CDRs de cadena ligera de SEQ ID Nos. 58, 44 y 59, respectivamente.

En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 156 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 157; un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 159; un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia

de aminoácidos de SEQ ID NO: 164 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 165; un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 150 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 151; o un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 166 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 167. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral comprende seis CDRs, o un dominio variable de cadena pesada y de cadena ligera, mostrados en las tablas 2–5. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral comprende seis CDRs de un dominio de unión anti-Her2, anti-CD19, anti-CD20, anti-CD38, o anti-LAMP1 mostrados en las Tablas 2-5.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígenos, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}–C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H1};

C_{H2} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2};

C_{H3} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H3};

bisagra es una región bisagra de inmunoglobulina que conecta los dominios C_{H1} y C_{H2}; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada;

en donde:

V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs:169, 171 y 173; y

en donde:

$V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs:168, 170 y 172.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígenos, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}–C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H1};

C_{H2} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2};

C_{H3} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H3};

bisagra es una región bisagra de inmunoglobulina que conecta los dominios CH1 y CH2; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada;

en donde:

$V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 50, 141–147, 178 y 179; y

en donde:

$V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 129–137.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígenos, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}–C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H1};

C_{H2} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2};

C_{H3} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H3};

bisagra es una región bisagra de inmunoglobulina que conecta los dominios C_{H1} y C_{H2}; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada;

en donde:

V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs:151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165 y 167; y

en donde:

$V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs:150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164 y 166.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígenos, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}–C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H1};

C_{H2} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2};

C_{H3} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H3};

bisagra es una región bisagra de inmunoglobulina que conecta los dominios C_{H1} y C_{H2}; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada;

en donde:

$V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs: 43–59, 123–125, 138–140 y 149; y

en donde:

V_{H1}, V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada que comprenden una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs: 25–42, 120–122 y 126–128.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3, un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 y un sitio de unión a antígeno que

se une específicamente a una diana de antígeno distinto de CD3 o CD28. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3 humana, un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 humana y un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una diana de antígeno humanos distinto de CD3 o CD28. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende (a) un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3, en donde el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3 comprende (i) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 152 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153, (ii) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155, (iii) un dominio variable de cadena pesada que comprende un CDR–H1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, un CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y un CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36 y un dominio variable de cadena ligera que comprende un CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, un CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y un CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54, o (iv) un dominio variable de cadena pesada que comprende un CDR–H1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, un CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y un CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36 y un dominio variable de cadena ligera que comprende un CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:149, un CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y un CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; (b) un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28, en donde el sitio de unión a antígeno que se une específicamente

a CD28 comprende (i) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 160 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 161, (ii) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 162 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 163, (iii) un dominio variable de cadena pesada que comprende un CDR–H1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, un CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y un CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30 y un dominio variable de cadena ligera que comprende un CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, un CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y un CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48, o (iv) un dominio variable de cadena pesada que comprende un CDR–H1 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, un CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y un CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33 y un dominio variable de cadena ligera que comprende un CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, un CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50 y un CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; y (c) un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una diana de antígeno distinto de CD3 o CD28. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende una primera cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:4 o 10, una segunda cadena polipeptídica que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:3 o 9 y una tercera y una cuarta cadena polipeptídica, en donde la tercera y la cuarta cadena polipeptídica forman un dominio de unión a antígeno que se une específicamente a una diana de antígeno distinto de CD3 o CD28. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una diana de antígeno distinto de CD3 o CD28 se une una diana de antígeno

seleccionado de A2AR, APRIL, ATPDasa, BAFF, BAFFR, BCMA, BliS, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4 (también conocida como VTCN1), B7H5, B7H6, B7H7, B7RP1, B7–4, C3, C5, CCL2 (también conocida como MCP–1), CCL3 (también conocida como MIP–1a), CCL4 (también conocida como MIP–1b), CCL5 (también conocida como RANTES), CCL7 (también conocida como MCP–3), CCL8 (también conocida como mcp–2), CCL11 (también conocida como eotaxina), CCL15 (también conocida como MIP–1d), CCL17 (también conocida como TARC), CCL19 (también conocida como MIP–3b), CCL20 (también conocida como MIP–3a), CCL21 (también conocida como MIP–2), CCL24 (también conocida como MPIF–2/eotaxina–2), CCL25 (también conocida como TECK), CCL26 (también conocida como eotaxina–3), CCR3, CCR4, CD19, CD20, CD23 (también conocida como FCER2, un receptor para IgF), CD24, CD27, CD28, CD38, CD39, CD40, CD70, CD80 (también conocida como B7–1), CD86 (también conocida como B7–2), CD122, CD137 (también conocida como 41BB), CD137L, CD152 (también conocida como CTLA4), CD154 (también conocida como CD40L), CD160, CD272, CD273 (también conocida como PDL2), CD274 (también conocida como PDL1), CD275 (también conocida como B7H2), CD276 (también conocida como B7H3), CD278 (también conocida como ICOS), CD279 (también conocida como PD–1), CDH1 (también conocida como E–cadherina), quitinasa, CLEC9, CLEC91, CRTH2, CSF–1 (también conocida como M–CSF), CSF–2 (también conocida como GM–CSF), CSF–3 (también conocida como GCSF), CX3CL1 (también conocida como SCYD1), CXCL12 (también conocida como SDF1), CXCL13, CXCR3, DNGR–1, ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa 1, EGFR, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, Gi24, GITR, GITRL, GM–CSF, Her2, HHLA2, HMGB1, HVEM, ICOSLG, IDO, IFNα, IgE, IGF1R, IL2Rbeta, IL1, IL1A, IL1B, IL1F10, IL2, IL4, IL4Ra, IL5, IL5R, IL6, IL7, IL7Ra, IL8, IL9, IL9R, IL10, rhIL10, IL12, IL13, IL13Ra1, IL13Ra2, IL15, IL17, IL17Rb (también conocida como receptor para IL25), IL18, IL22, IL23, IL25, IL27, IL33, IL35, ITGB4 (también conocida como b4 integrina), ITK, KIR, LAG3, LAMP1, leptina, LPFS2, MHC clase II, NCR3LG1, NKG2D, NTPDasa–1, OX40, OX40L, PD–1H, receptor

plaquetario, PROM1, S152, SISP1, SLC, SPG64, ST2 (también conocida como receptor para IL33), STEAP2, Syk quinasa, TACI, TDO, T14, TIGIT, TIM3, TLR, TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, TMEF1, TNFa, TNFRSF7, Tp55, TREM1, TSLP (también conocida como co-receptor para IL7Ra), TSLPR, TWEAK, VEGF, VISTA, Vstm3, WUCAM y XCR1 (también conocida como GPR5/CCXCR1).

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47, y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende un CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, un CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y un CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

NO:36; V_{L1} comprende un CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, un CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y un CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H2} comprende un CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25, un CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26 y un CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27; V_{L2} comprende un CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43, un CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y un CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45; V_{H3} comprende un CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25, un CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26 y un CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27; y V_{L3} comprende un CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43, un CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y un CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58, una CDR–L2 que comprende

la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO:51; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR–H2 que comprende la secuencia

de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR–L2 que comprende la secuencia

de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO146: y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia

de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia

de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 120, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 121 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 122; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125.

En algunas realizaciones, V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR–H2 que comprende la secuencia

de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 120, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 121 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 122; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125.

Dianas de antígenos

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción se une con una o varias (por ejemplo, una, dos o tres) de las siguientes dianas de antígenos o proteínas diana: A2AR, APRIL, ATPDasa, BAFF, BAFFR, BCMA, BlyS, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4 (también conocida como VTCN1), B7H5, B7H6, B7H7, B7RP1, B7–4, C3, C5, CCL2 (también conocida como MCP–1), CCL3 (también conocida como MIP–1a), CCL4 (también conocida como MIP–1b), CCL5 (también conocida como RANTES), CCL7 (también conocida como MCP–3), CCL8 (también conocida como mcp–2), CCL11 (también conocida como eotaxin), CCL15 (también conocida como MIP–1d), CCL17 (también conocida como TARC), CCL19 (también conocida como MIP–3b), CCL20 (también

conocida como MIP–3a), CCL21 (también conocida como MIP–2), CCL24 (también conocida como MPIF–2/eotaxin–2), CCL25 (también conocida como TECK), CCL26 (también conocida como eotaxin–3), CCR3, CCR4, CD3, CD19, CD20, CD23 (también conocida como FCER2, un receptor para IgE), CD24, CD27, CD28, CD38, CD39, CD40, CD70, CD80 (también conocida como B7–1), CD86 (también conocida como B7–2), CD122, CD137 (también conocida como 41BB), CD137L, CD152 (también conocida como CTLA4), CD154 (también conocida como CD40L), CD160, CD272, CD273 (también conocida como PDL2), CD274 (también conocida como PDL1), CD275 (también conocida como B7H2), CD276 (también conocida como B7H3), CD278 (también conocida como ICOS), CD279 (también conocida como PD–1), CDH1 (también conocida como E–cadherin), quitinasa, CLEC9, CLEC91, CRTH2, CSF–1 (también conocida como M–CSF), CSF–2 (también conocida como GM–CSF), CSF–3 (también conocida como GCSF), CX3CL1 (también conocida como SCYD1), CXCL12 (también conocida como SDF1), CXCL13, CXCR3, DNGR–1, ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa 1, EGFR, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, Gi24, GITR, GITRL, GM–CSF, Her2, HHLA2, HMGB1, HVEM, ICOSLG, IDO, IFNα, IgE, IGF1R, IL2Rbeta, IL1, IL1A, IL1B, IL1F10, IL2, IL4, IL4Ra, IL5, IL5R, IL6, IL7, IL7Ra, IL8, IL9, IL9R, IL10, rhIL10, IL12, IL13, IL13Ra1, IL13Ra2, IL15, IL17, IL17Rb, (también conocido como receptor para IL33), STEAP2, IL18, IL22, IL23, IL25, IL27, IL33, IL35, ITGB4 (también conocida como b4 integrina), ITK, KIR, LAG3, LAMP1, leptina, LPFS2, MHC clase II, NCR3LG1, NKG2D, NTPDasa–1, OX40, OX40L, PD–1H, receptor plaquetario, S152, SISP1, SLC, SPG64, ST2 (también conocido como receptor para IL33), STEAP2, Syk quinasa, TACI, TDO, T14, TIGIT, TIM3, TLR, TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, TMEF1, TNFa, TNFRSF7, Tp55, TREM1, TSLP (también conocido como co-receptor para IL7Ra), TSLPR, TWEAK, VEGF, VISTA, Vstm3, WUCAM y XCR1 (también conocida como GPR5/CCXCR1). En algunas realizaciones, uno o varios de los dianas de antígenos anteriores son dianas de antígenos humanos.

En una realización, las proteínas de unión específicamente se unen con una o varias dianas de antígenos tumorales (por ejemplo, proteínas diana). En otras realizaciones, las proteínas de unión específicamente se unen con una o varias proteínas diana tumorales y una o varias proteínas diana en una célula T incluyendo un complejo de receptores de células T. Estas proteínas de unión de enganche de células T son capaces de reclutar células T transitoriamente en células blanco y, al mismo tiempo, activan la actividad citolítica de las células T. Los ejemplos de proteínas diana en células T incluyen, pero sin limitación, CD3 y CD28, entre otros. Otros ejemplos de tales dianas de antígenos o proteínas diana se proporcionan supra. En algunas realizaciones, las proteínas de unión triespecíficas se pueden generar combinando los dominios de unión a antígeno de dos más anticuerpos monoespecíficos (anticuerpos progenitores) en un anticuerpo. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción se une con uno o varios (por ejemplo, uno, dos o tres) de los siguientes dianas de antígenos: CD3, CD19, CD20, CD28, CD38, Her2, LAMP1, IL–4, IL–13 y TNFa.

En algunas realizaciones de la descripción, la proteína de unión trivalente es capaz de unirse con dianas de antígenos. En algunas realizaciones de la descripción, la proteína de unión trivalente es capaz de unir tres diferentes dianas de antígenos. En una realización, la proteína de unión es triespecífica y un par de cadena ligera–cadena pesada es capaz de unir dos diferentes dianas de antígenos o epítopos y un par de cadena ligera–cadena pesada es capaz de unir una diana de antígeno o epítopo. En otra realización, la proteína de unión es capaz de unir tres dianas de antígenos tumorales. En otra realización, la proteína de unión es capaz de unir tres diferentes dianas de antígenos tumorales. En otras realizaciones, la proteína de unión es capaz de inhibir la función de uno o varios de los dianas de antígenos.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción se une con una o varias proteínas diana tumorales. En algunas realizaciones, la proteína de unión is capaz de unirse específicamente con tres epítopos en una proteína diana tumoral simple.

En algunas realizaciones, la proteína de unión es capaz de unir específicamente tres diferentes epítopos en una proteína diana tumoral simple. En algunas realizaciones, la proteína de unión es capaz de unir dos diferentes epítopos en una primera proteína diana tumoral y un epítopo en una segunda proteína diana tumoral. En algunas realizaciones, la primera y la segunda proteína diana tumoral son diferentes. En algunas realizaciones, la proteína de unión es capaz de unir específicamente tres diferentes proteínas diana tumorales.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción se une con una o varias proteínas diana de citoquina. . En algunas realizaciones, la proteína de unión es capaz de unirse específicamente con tres epítopos en una proteína diana de citoquina simple. En algunas realizaciones, la proteína de unión es capaz de unir específicamente tres diferentes epítopos en una única proteína diana de citoquina. En algunas realizaciones, la proteína de unión es capaz de unir dos diferentes epítopos en una primera proteína diana de citoquina y un epítopo en una segunda proteína diana de citoquina. En algunas realizaciones, la primera y la segunda proteína diana de citoquina son diferentes. En algunas realizaciones, la proteína de unión es capaz de unir específicamente tres diferentes proteínas diana de citoquina. En algunas realizaciones, las una o varias proteínas diana de citoquina son uno o varios de IL–4, IL–13 y/o TNFa. Otros ejemplos de proteínas diana de citoquina se proporcionan *infra*.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción se une con una o varias proteínas diana tumorales y una o varias proteínas diana de células T. En algunas realizaciones, la proteína de unión es capaz de unir específicamente una proteína diana tumoral y dos diferentes epítopos en una proteína diana de células T única. En algunas realizaciones, la proteína de unión es capaz de unir específicamente una proteína diana tumoral y dos diferentes proteínas diana de células T (por ejemplo, CD28 y CD3). En algunas realizaciones, la proteína de unión es capaz de unir específicamente una proteína diana de células T y dos diferentes epítopos en una proteína diana tumoral simple. En

algunas realizaciones, la proteína de unión es capaz de unir específicamente una proteína diana de células T y dos diferentes proteínas diana tumorales. En algunas realizaciones, la primera y la segunda cadena polipeptídica de la proteína de unión forman dos sitios de unión a antígeno que específicamente se dirigen a dos proteínas diana de células T y la tercera y la cuarta cadena polipeptídica de la proteína de unión forman un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral. En algunas realizaciones, la primera y la segunda cadena polipeptídica de la proteína de unión forman dos sitios de unión a antígeno que específicamente se dirigen a dos proteínas diana tumorales y la tercera y la cuarta cadena polipeptídica de la proteína de unión forman un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana de células T. En algunas realizaciones, las una o varias proteínas diana tumorales son uno o varios de CD3, CD19, CD20, CD28, CD38, Her2, LAMP1, IL–4, IL–13 y/o TNFa. En algunas realizaciones, las una o varias proteínas diana de células T son uno o varios de CD3 y CD28. Otros ejemplos de proteínas diana tumorales y proteínas diana de células T se proporcionan *supra*.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción se une cada uno, de modo independiente entre sí, iguales o diferentes, con uno, dos o tres dianas de antígenos o proteínas diana seleccionados de proteínas diana de citoquina, antígenos blanco tumorales o proteínas diana tumorales, proteínas diana de células T, inhibidores de los puntos de control del sistema inmune, moduladores de los puntos de control del sistema inmune, moléculas coestimuladoras de los puntos de control del sistema inmune y/o moléculas blanco sobre la superficie de una célula inmune. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción es trivalente pero biespecífico y capaz de unirse específicamente con dos veces los mismos dianas de antígenos o proteínas diana. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción es capaz de unirse específicamente con dos o diferentes epítopos en una proteínas diana de citoquina simple, antígenos blanco tumorales o proteínas diana tumorales, proteínas diana de células

T, inhibidores de los puntos de control del sistema inmune, moduladores de los puntos de control del sistema inmune, moléculas coestimuladoras de los puntos de control del sistema inmune, y/o moléculas blanco sobre la superficie de una célula inmune. Otros ejemplos de tales dianas de antígenos o proteínas diana se proporcionan *supra*.

Las proteínas de unión de la descripción se pueden preparar usando dominios o secuencias obtenidas o derivadas de cualquier anticuerpo humano o no humano, incluyendo, por ejemplo, anticuerpos humanos, murinos o humanizados.

Ligadores

En algunas realizaciones, los ligadores L_1, L_2, L_3 y L_4 varían de ningún aminoácido (largo = 0) a aproximadamente 100 aminoácidos de longitud o menos que 100, 50, 40, 30, 20 ó 15 aminoácidos o menos. Los ligadores también pueden tener 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 ó 1 aminoácidos de longitud. L_1, L_2, L_3 y L_4 en una proteína de unión pueden tener todos la misma secuencia de aminoácidos o pueden tener todos diferentes secuencias de aminoácidos.

Los ejemplos de ligadores apropiados incluyen un resto de glicina simple (Gly); un péptido de diglicina (Gly–Gly); un tripéptido (Gly–Gly–Gly); un péptido con cuatro restos de glicina (Gly–Gly–Gly–Gly; SEQ ID NO: 98); un péptido con cinco restos de glicina (Gly–Gly–Gly–Gly–Gly; SEQ ID NO: 99); un péptido con seis restos de glicina (Gly–Gly–Gly–Gly–Gly–Gly; SEQ ID NO: 100); un péptido con siete restos de glicina (Gly–Gly–Gly–Gly–Gly–Gly–Gly; SEQ ID NO: 101); un péptido con ocho restos de glicina (Gly–Gly–Gly–Gly–Gly–Gly–Gly–Gly; SEQ ID NO: 102). Otras combinaciones de restos de aminoácidos se pueden usar tales como el péptido Gly–Gly–Gly–Gly–Ser (SEQ ID NO: 103), el péptido Gly–Gly–Gly–Gly–Ser–Gly–Gly–Gly–Gly–Ser (SEQ ID NO: 104), el péptido Gly–Gly–Gly–Gly–Ser–Gly–Gly–Gly–Gly–Ser–Gly–Gly–Gly–Gly–Ser (SEQ ID NO: 105) y el péptido Gly–Gly–Ser–Gly–Ser–Ser–Gly–Ser–Gly–Gly (SEQ ID NO: 148). Otros ligadores apropiados incluyen un resto simple de Ser y Val; el dipéptido Arg–Thr, Gln–Pro, Ser–Ser, Thr–Lys y Ser–Leu; Thr–Lys–Gly–Pro–Ser (SEQ ID NO: 106), Thr–Val–Ala–Ala–Pro (SEQ ID NO:

107), Gln–Pro–Lys–Ala–Ala (SEQ ID NO: 108), Gln–Arg–Ile–Glu–Gly (SEQ ID NO: 109); Ala–Ser–Thr–Lys–Gly–Pro–Ser (SEQ ID NO: 110), Arg–Thr–Val–Ala–Ala–Pro–Ser (SEQ ID NO: 111), Gly–Gln–Pro–Lys–Ala–Ala–Pro (SEQ ID NO: 112) y His–Ile–Asp–Ser–Pro–Asn–Lys (SEQ ID NO: 113). Los ejemplos enumerados con anterioridad no pretenden limitar el alcance de la descripción de modo alguno y los ligadores que comprenden aminoácidos aleatoriamente seleccionados del grupo que consiste en valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, lisina, arginina, histidina, aspartato, glutamato, asparagina, glutamina, glicina y prolina se mostraron apropiados en las proteínas de unión. Para descripciones adicionales de secuencias ligadoras, ver, por ejemplo, el documento WO 2012135345.

La identidad y secuencia de restos de aminoácidos en el ligador puede variar según el tipo de elemento estructural secundario necesario para lograr en el ligador. Por ejemplo, glicina, serina y alanina son mejores para ligadores que tienen máxima flexibilidad. Cierta combinación de glicina, prolina, treonina y serina es útil si es necesario un ligador más rígido y extendido. Cualquier resto de aminoácido se puede considerar como un ligador en combinación con otros restos de aminoácidos para construir ligadores peptídicos más grandes que lo necesario según las propiedades deseadas.

En algunas realizaciones, la longitud de L_1 es al menos dos veces la longitud de L_3. En algunas realizaciones, la longitud de L_2 es al menos dos veces la longitud de L_4. En algunas realizaciones, la longitud de L_1 es al menos dos veces la longitud de L_3 y la longitud de L_2 es al menos dos veces la longitud de L_4. En algunas realizaciones, L_1 tiene una longitud de 3 a 12 restos de aminoácidos, L_2 tiene una longitud de 3 a 14 restos de aminoácidos, L_3 tiene una longitud de 3 a 8 restos de aminoácidos y L_4 tiene una longitud de 1 a 3 restos de aminoácidos. En algunas realizaciones, L_1 tiene una longitud de 5 a 10 restos de aminoácidos, L_2 tiene una longitud de 5 a 8 restos de aminoácidos, L_3 tiene una longitud de 1 a 5 restos de aminoácidos y L_4 tiene una longitud de 1 a 2 restos de aminoácidos. En algunas realizaciones, L_1 tiene una longitud de 7 restos de aminoácidos,

L_2 tiene una longitud de 5 restos de aminoácidos, L_3 tiene una longitud de 1 resto de aminoácido y L_4 tiene una longitud de 2 restos de aminoácidos. En algunas realizaciones, L_1 tiene una longitud de 10 restos de aminoácidos, L_2 tiene una longitud de 10 restos de aminoácidos, L_3 tiene una longitud de 0 restos de aminoácido y L_4 tiene una longitud de 0 restos de aminoácidos. En algunas realizaciones, L_1, L_2, L_3 y L_4 tiene un largo cada uno, de modo independiente, seleccionado de 0 a 15 aminoácidos (por ejemplo, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 ó 15 aminoácidos), en donde al menos dos de los ligadores tienen una longitud de 1 a 15 aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 ó 15 aminoácidos). En algunas realizaciones, L_1, L_2, L_3, y L_4 tienen cada uno una longitud de 0 aminoácidos.

En algunas realizaciones, L_1, L_2, L_3, y/o L_4 comprenden la secuencia Asp–Lys–Thr–His–Thr (SEQ ID NO: 525). En algunas realizaciones, L_1 comprende la secuencia Asp–Lys–Thr–His–Thr (SEQ ID NO: 525). En algunas realizaciones, L_3 comprende la secuencia Asp–Lys–Thr–His–Thr (SEQ ID NO: 525).

En algunas realizaciones, L_1, L_2, L_3, y/o L_4 comprenden una secuencia derivada de una secuencia natural en la unión entre un dominio variable de anticuerpo y un dominio constante de anticuerpo (por ejemplo, como se describe en el documento WO2012/135345). Por ejemplo, en algunas realizaciones, el ligador comprende una secuencia hallada en la transición entre un dominio endógeno V_H y C_{H1} o entre un dominio endógeno V_L y C_L (por ejemplo, kappa o lambda). En algunas realizaciones, el ligador comprende una secuencia hallada en la transición entre un dominio humano endógeno V_H y C_{H1} o entre un dominio humano endógeno V_L y C_L (por ejemplo, kappa o lambda humano).

En algunas realizaciones, L_1, L_2, L_3, y/o L_4 comprenden la secuencia Gly–Gln–Pro–Lys–Ala–Ala–Pro (SEQ ID NO: 175). En algunas realizaciones, L_1 comprende la secuencia Gly–Gln–Pro–Lys–Ala–Ala–Pro (SEQ ID NO: 175). En algunas realizaciones, L_1 comprende la secuencia Gly–Gln–Pro–Lys–Ala–Ala–Pro (SEQ ID NO: 175), L_2 comprende la secuencia Thr–Lys–Gly–Pro–Ser–Arg (SEQ ID NO: 176), L_3 comprende la secuencia Ser

y L_4 comprende la secuencia Arg–Thr. En algunas realizaciones, L_3 comprende la secuencia Gly–Gln–Pro–Lys–Ala–Ala–Pro (SEQ ID NO: 175). En algunas realizaciones, L_1 comprende la secuencia Ser, L_2 comprende la secuencia Arg–Thr, L_3 comprende la secuencia Gly–Gln–Pro–Lys–Ala–Ala–Pro (SEQ ID NO: 175) y L_4 comprende la secuencia Thr–Lys–Gly–Pro–Ser–Arg (SEQ ID NO: 176).

En algunas realizaciones, L_1, L_2, L_3 y L_4 comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia seleccionada de $(GGGGS)_n$ (en donde n es un número entero de entre 0 y 5; SEQ ID NO: 174), GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105), S, RT, TKGPS (SEQ ID NO: 106), GQPKAAP (SEQ ID NO: 175) y GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148). En algunas realizaciones, L_1 comprende la secuencia GQPKAAP (SEQ ID NO: 175), L_2 comprende la secuencia TKGPS (SEQ ID NO: 106), L_3 comprende la secuencia S y L_4 comprende la secuencia RT. En algunas realizaciones, L_1 comprende la secuencia GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), L_2 comprende la secuencia GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), L_3 tiene 0 aminoácidos de longitud y L_4 tiene 0 aminoácidos de longitud. En algunas realizaciones, L_1 comprende la secuencia GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148), L_2 comprende la secuencia GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148), L_3 tiene 0 aminoácidos de longitud y L_4 tiene 0 aminoácidos de longitud. En algunas realizaciones, L_1 comprende la secuencia GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105), L_2 tiene 0 aminoácidos de longitud, L_3 comprende la secuencia GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105) y L_4 tiene 0 aminoácidos de longitud. En algunas realizaciones, L_1 y L_2 tienen una longitud de cero aminoácidos, y L_3 y L_4 comprenden cada uno una secuencia seleccionada independientemente de (GGGGS)n (en donde n es un número entero entre 0 y 5; SEQ ID NO:174), GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:104), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:105), S, RT, TKGPS (SEQ ID NO:106), GQPKAAP (SEQ ID NO: 175), y GGSGSSGSGG (SEQ ID NO:148). En algunas realizaciones, L_3 y L_4 tienen una longitud de cero aminoácidos, y L_1 y L_2 comprenden cada uno una secuencia seleccionada independientemente

seleccionada de (GGGGS)n (en donde n es un número entero entre 0 y 5; SEQ ID NO:174), GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:104), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:105), S, RT, TKGPS (SEQ ID NO:106), GQPKAAP (SEQ ID NO: 175), y GGSGSSGSGG (SEQ ID NO:148).

Regiones Fc y dominios constantes

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende una segunda cadena polipeptídica que también comprende una región Fc ligada con C_{H1}, en donde la región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende una tercera cadena polipeptídica que también comprende una región Fc ligada con C_{H1}, en donde la región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende una segunda cadena polipeptídica que también comprende una región Fc ligada con C_{H1}, en donde la región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3} y una tercera cadena polipeptídica que también comprende una región Fc ligada con C_{H1}, en donde la región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción incluye una o dos variantes de Fc. La expresión "variante de Fc" como se usa en la presente se refiere a una molécula o secuencia que es modificada desde una Fc nativa, pero aún comprende un sitio de unión para el receptor salvaje, FcRn (receptor Fc neonatal). Las variantes Fc de ejemplo y su interacción con el receptor salvaje se conocen en la técnica. Así, la expresión "variante de Fc" puede comprender una molécula o secuencia que se humaniza desde una Fc nativa no humana. Por otra parte, una Fc nativa comprende regiones que se pueden remover porque proporcionan características estructurales o una

actividad biológica que no se requieren para las proteínas de unión como anticuerpos de la invención. De esta manera, la expresión "variante de Fc" comprende una molécula o secuencia que carece de uno o varios sitios de Fc nativos o restos o en donde uno o varios sitios de Fc o restos fueron modificados, que afectan o están implicados en: (1) la formación de enlaces de disulfuro, (2) incompatibilidad con una célula huésped seleccionada, (3) heterogeneidad N–terminal después de la expresión en una célula huésped seleccionada, (4) glicosilación, (5) interacción con el complemento, (6) unión con un receptor Fc distinto de un receptor salvaje o (7) citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC).

Para mejorar los rendimientos de las proteínas de unión, los dominios C_{H3} se pueden alterar por la tecnología de "botones en ojales" que se describe en detalle con varios ejemplos, por ejemplo, en la publicación internacional N.º WO 96/027011, Ridgway *et al*., 1996, *proteína Eng*. 9: 617–21; y Merchant *et al*., 1998, *Nat. Biotechnol*. 16: 677–81. Específicamente, las superficies de interacción de los dos dominios C_{H3} se alteran para incrementar la heterodimerización de las dos cadenas pesadas que contienen estos dos dominios C_{H3}. Cada uno de los dos dominios C_{H3} (de las dos cadenas pesadas) puede ser el "botón", mientras que el otro es el "ojal". La introducción de un puente disulfuro también estabiliza los heterodímeros (Merchant *et al*., 1998; Atwell *et al*., 1997, *J. Mol. Biol*. 270: 26–35) y aumenta el rendimiento. En realizaciones particulares, el botón está en el segundo par de polipéptidos con un dominio variable simple. En otras realizaciones, el botón está en el primer par de polipéptidos que tiene la orientación cruzada. En otras realizaciones más, los dominios C_{H3} no incluyen un botón en ojal.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende una mutación de “botón” en la segunda cadena polipeptídica y una mutación de “ojal” en la tercera cadena polipeptídica. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende una mutación de “botón” en la tercera cadena polipeptídica y una mutación de “ojal” en la segunda cadena de polipéptido. En algunas realizaciones, la mutación de “botón” comprende sustituciones en las posiciones

correspondientes a las posiciones 354 y/o 366 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU. En algunas realizaciones, las sustituciones de aminoácidos son S354C, T366W, T366Y, S354C yT366W, o S354C y T366Y. En algunas realizaciones, la mutación de "botón" comprende sustituciones en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU. En algunas realizaciones, las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W. En algunas realizaciones, la mutación de "ojal" comprende sustitución o sustituciones en las posiciones correspondientes a las posiciones 407 y opcionalmente 349, 366 y/o 368 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU. En algunas realizaciones, las sustituciones de aminoácidos son Y407V o Y407T y opcionalmente Y349C, T366S, y/o L368A. En algunas realizaciones, la mutación de "ojal" comprende sustituciones en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368 y 407 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU. En algunas realizaciones, las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A e Y407V.

En algunas realizaciones, la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc ligada con CH1, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina CH2 y CH3, en donde la primera región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 366 y opcionalmente 354 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son T366W o T366Y y opcionalmente S354C; y en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc ligada con CH1, en donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina CH2 y CH3, en donde la segunda región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 407 y opcionalmente 349, 366, y/o 368 y de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y407V o Y407T y opcionalmente Y349C, T366S, y/o L368A.

En algunas realizaciones, la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc ligada con CH1, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina CH2 y CH3, en donde la primera región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 407 y opcionalmente 349, 366, y/o 368 y de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y407V o Y407T y opcionalmente Y349C, T366S, y/o L368A; y en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc ligada con CH1, en donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina CH2 y CH3, en donde la segunda región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 366 y opcionalmente 354 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son T366W o T366Y y opcionalmente S354C.

En algunas realizaciones, la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc ligada con CH1, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina CH2 y CH3, en donde la primera región Fc comprende sustitución de aminoácidos en la posición correspondiente a la posición 366 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde la sustitución de aminoácidos es T366W; y en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc ligada con CH1, en donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina CH2 y CH3, en donde la segunda región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 366, 368, y/o 407 y de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son T366S, L368A, y/o Y407V.

En algunas realizaciones, la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc ligada con CH1, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina CH2 y CH3, en donde la primera región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 366, 368, y/o 407 y de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son T366S, L368A, y/o Y407V; y en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc ligada con CH1, en donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina CH2 y CH3, en donde la segunda región Fc comprende sustitución de aminoácidos en la posición correspondiente a la posición 366 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde la sustitución de aminoácidos es T366W.

En algunas realizaciones, la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}, en donde la primera región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; y en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}, en donde la segunda región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368 y 407 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A e Y407V. En algunas realizaciones, la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y

C_{H3}, en donde la primera región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368 y 407 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A e Y407V; y en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}, en donde la segunda región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W. En algunas realizaciones, la primera y/o la segunda región Fc son regiones Fc de IgG1 humana. En algunas realizaciones, la primera y/o la segunda región Fc son regiones Fc de IgG4 humana.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende una o varias mutaciones para mejorar la vida media en suero (ver, por ejemplo, Hinton, P.R. et al. (2006) J. Immunol. 176(1):346–56). En algunas realizaciones, la mutación comprende sustituciones en las posiciones correspondientes a las posiciones 428 y 434 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son M428L y N434S. En algunas realizaciones, la proteína de unión comprende una segunda cadena polipeptídica que también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3} y una tercera cadena polipeptídica que también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}, en donde la primera y/o la segunda región Fc comprenden sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 428 y 434 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son M428L y N434S. En algunas

realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende mutaciones de botón y ojal y una o varias mutaciones para mejorar la vida media en suero. En algunas realizaciones, la primera y/o la segunda región Fc son regiones Fc de IgG1 humana. En algunas realizaciones, la primera y/o la segunda región Fc son regiones Fc de IgG4 humana.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende una o varias mutaciones para mejorar la estabilidad, por ejemplo, de la región bisagra y/o interfaz dimérica de IgG4 (ver, por ejemplo, Spiess, C. *et al.* (2013) *J. Biol. Chem.* 288:26583–26593). En algunas realizaciones, la mutación comprende sustituciones en las posiciones correspondientes a las posiciones 228 y 409 de IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S228P y R409K. En algunas realizaciones, la proteína de unión comprende una segunda cadena polipeptídica que también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3} y una tercera cadena polipeptídica que también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde la primera y la segunda región Fc son regiones Fc de IgG4 humana; y en donde la primera y la segunda región Fc comprenden cada una sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 228 y 409 de IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S228P y R409K. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende mutaciones de botón y ojal y una o varias mutaciones para mejorar estabilidad. En algunas realizaciones, la primera y/o la segunda región Fc son regiones Fc de IgG4 humana.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende una o varias mutaciones para mejorar la purificación, por ejemplo, por

modulación de la afinidad por un reactivo de purificación. Por ejemplo, se sabe que las proteínas de unión heterodiméricas se pueden purificar selectivamente de sus formas homodiméricas si una de las dos regiones Fc de la forma heterodimérica contiene mutaciones que reducen o eliminan la unión con la proteína A, porque la forma heterodimérica tendrá una afinidad intermedia por la purificación a base de proteína A que la forma homodimérica y se puede eluir selectivamente de la proteína A, por ejemplo, usando un pH diferente (ver, por ejemplo, Smith, E.J. *et al.* (2015) *Sci. Rep.* 5:17943). En algunas realizaciones, la mutación comprende sustituciones en las posiciones correspondientes a las posiciones 435 y 436 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son H435R e Y436F. En algunas realizaciones, la proteína de unión comprende una segunda cadena polipeptídica que también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3} y una tercera cadena polipeptídica que también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; y en donde sólo una de la primera y la segunda región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 435 y 436 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son H435R e Y436F. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende mutaciones de botón y ojal y una o varias mutaciones para mejorar purificación. En algunas realizaciones, la primera y/o la segunda región Fc son regiones Fc de IgG1 humana. En algunas realizaciones, la primera y/o la segunda región Fc son regiones Fc de IgG4 humana.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende una o varias mutaciones para reducir la función efectora, por ejemplo, fagocitosis celular dependiente de anticuerpo mediado por el receptor Fc (ADCP),

citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) y/o citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC). En algunas realizaciones, la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde la primera y la segunda región Fc son regiones Fc de IgG1 humana; y en donde la primera y la segunda región Fc comprenden cada una sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 234 y 235 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son L234A y L235A. En algunas realizaciones, las regiones Fc de la segunda y la tercera cadena polipeptídica son las regiones Fc de IgG1 humana y en donde las regiones Fc comprenden cada uno sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 234 y 235 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son L234A y L235A. En algunas realizaciones, la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc ligada con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc ligada con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde las primeras y segundas regiones Fc son regiones Fc de IgG1 humana; y en donde las primeras y segundas regiones Fc comprenden cada una sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 234, 235, 329 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son L234A, L235A y P329A. En algunas realizaciones, las regiones Fc de la segunda y la tercera cadena polipeptídica son regiones Fc de IgG1

humana y en donde las regiones Fc comprenden cada una sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 234, 235 y 329 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son L234A, L235A y P329A. En algunas realizaciones, la mutación comprende sustituciones en las posiciones correspondientes a las posiciones 234 y 235 de IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son F234A y L235A. En algunas realizaciones, la proteína de unión comprende una segunda cadena polipeptídica que también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3} y una tercera cadena polipeptídica que también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; y en donde la primera y la segunda región Fc comprenden cada una sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 234 y 235 de IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son F234A y L235A. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende mutaciones de botón y ojal y una o varias mutaciones para reducir la función efectora. En algunas realizaciones, la primera y/o la segunda región Fc son regiones Fc de IgG1 humana. En algunas realizaciones, la primera y/o la segunda región Fc son regiones Fc de IgG4 humana. Para mayor descripción de mutaciones Fc en la posición 329, ver, por ejemplo, Shields, R.L. *et al.* (2001) *J. Biol. Chem.* 276:6591–6604 y documento WO1999051642.

En algunas realizaciones, los tipos de mutaciones descritos *supra* se pueden combinar en cualquier orden o combinación. Por ejemplo, una proteína de unión de la presente descripción puede comprender dos o más de las mutaciones de “botón” y “ojal”, una o varias mutaciones para mejorar la vida media en suero, una o varias mutaciones

para mejorar la estabilidad de IgG4, una o varias mutaciones para mejorar la purificación y/o una o varias mutaciones para reducir la función efectora descrita *supra*.

En ciertas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción comprende: una primera cadena polipeptídica que comprende un dominio CL lambda; un dominio C_{H3} de una segunda cadena polipeptídica que comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; un dominio C_{H3} de una tercera cadena polipeptídica que comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368, 407, 435 y 436 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A, Y407V, H435R e Y436F; y una cuarta cadena polipeptídica que comprende un dominio CL kappa. En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende un dominio CL lambda; en donde el dominio CH3 de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; en donde el dominio CH3 de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368, 407, 435 y 436 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A, Y407V, H435R e Y436F; y en donde la cuarta cadena polipeptídica comprende un dominio CL kappa. En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende un dominio CL lambda; en donde el dominio CH3 de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354, 366, 435 y 436 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C, T366W, H435R e Y436F; en donde el dominio CH3 de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes

a las posiciones 349, 366, 368 y 407 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A e Y407V; y en donde la cuarta cadena polipeptídica comprende un dominio CL kappa. En algunas realizaciones, la primera cadena polipeptídica comprende un dominio CL kappa; en donde el dominio CH3 de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; en donde el dominio CH3 de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368, 407, 435 y 436 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A, Y407V, H435R e Y436F; y en donde la cuarta cadena polipeptídica comprende un dominio CL lambda.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción se purifica por cromatografía por afinidad de la proteína A, cromatografía por afinidad de cadena ligera kappa (por ejemplo, usando una resina KappaSelect de acuerdo con las instrucciones del fabricante; GE Healthcare) y opcionalmente cromatografía por afinidad de cadena ligera lambda (por ejemplo, usando una resina LambdaFabSelect de acuerdo con las instrucciones del fabricante; GE Healthcare). En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción se purifica por cromatografía por afinidad de Proteína A, cromatografía por afinidad de cadena ligera lambda (por ejemplo, usando una resina LambdaFabSelect de acuerdo con las instrucciones del fabricante; GE Healthcare) y opcionalmente cromatografía por afinidad de cadena ligera kappa (por ejemplo, usando una resina KappaSelect de acuerdo con las instrucciones del fabricante; GE Healthcare). En algunas realizaciones, la proteína de unión comprende dos regiones Fc, donde cada una comprende un dominio C_{H3} y sólo uno de los dominios C_{H3} comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 435 y 436 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son

H435R e Y436F. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción se purifica por cromatografía por afinidad de Proteína A, luego cromatografía por afinidad de cadena ligera kappa (por ejemplo, usando una resina KappaSelect de acuerdo con las instrucciones del fabricante; GE Healthcare), luego opcionalmente cromatografía por afinidad de cadena ligera lambda (por ejemplo, usando una resina LambdaFabSelect de acuerdo con las instrucciones del fabricante; GE Healthcare) en secuencia. En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción se purifica por cromatografía por afinidad de proteína A, luego cromatografía por afinidad de cadena ligera lambda (por ejemplo, usando una resina LambdaFabSelect de acuerdo con las instrucciones del fabricante; GE Healthcare), luego opcionalmente cromatografía por afinidad de cadena ligera kappa (por ejemplo, usando una resina KappaSelect de acuerdo con las instrucciones del fabricante; GE Healthcare) en secuencia. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la proteína de unión se pone en contacto con la Proteína A, eluida de la proteína A en condiciones apropiadas para aislar la proteína de unión de las proteínas de unión que comprenden ya sea 0 ó 2 dominios C_{H3} que comprenden las sustituciones de aminoácidos son H435R e Y436F, en contacto con un medio de afinidad de cadena ligera kappa (por ejemplo, como se usa en la resina KappaSelect; GE Healthcare) y eluida del medio de afinidad de cadena ligera kappa en condiciones apropiadas para aislar la proteína de unión de las proteínas de unión que comprende sólo dominios CL lambda (por ejemplo, de acuerdo con las instrucciones del fabricante). Las condiciones apropiadas para la elución de la proteína A se conocen en la técnica, incluyendo, pero sin limitación, un gradiente de elución gradual de pH 4,5–2,8. En algunas realizaciones, se emplea Proteína A o una variante de Proteína A útil para purificación de proteínas. En algunas realizaciones, la Proteína A está unida a un sustrato o una resina, v.g., como parte del medio cromatográfico. En algunas realizaciones, después de la elución del medio de afinidad de cadena ligera kappa, la proteína de unión se contacta con un medio de afinidad de cadena ligera lambda (por ejemplo, como se usa en la resina LambdaFabSelect; GE Healthcare) y

eluida del medio de afinidad de cadena ligera lambda en condiciones apropiadas para aislar la proteína de unión de las proteínas de unión que comprende sólo dominios CL kappa (por ejemplo, de acuerdo con las instrucciones del fabricante). En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción se detecta usando cromatografía HIC. En algunas realizaciones, la proteína de unión comprende: una primera cadena polipeptídica que comprende un dominio CL lambda; un dominio C_{H3} de una segunda cadena polipeptídica que comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; un dominio C_{H3} de una tercera cadena polipeptídica que comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368, 407, 435 y 436 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A, Y407V, H435R e Y436F; y una cuarta cadena polipeptídica que comprende un dominio C_L kappa. En algunas realizaciones, la proteína de unión es producida por una célula huésped. En algunas realizaciones, la proteína de unión se purifica a partir de un medio de cultivo celular o extracto de célula huésped. En algunas realizaciones, las proteínas de unión son secretadas por una célula huésped o producidas y extraídas de una célula huésped (por ejemplo, antes de ponerse en contacto con la Proteína A). En algunas realizaciones, la proteína de unión está en un medio de cultivo celular o extracto de célula huésped cuando se pone en contacto con la proteína A. En algunas realizaciones, la proteína de unión se purifica separándola de otras proteínas de unión, polipéptidos y/u otros componentes celulares.

En algunas realizaciones, C_{H1}, C_{H2}, C_{H3} y CL de las proteínas de unión triespecíficas descritas en la presente pueden comprender cualquiera de las secuencias C_{H1}, C_{H2}, C_{H3} y CL de las proteínas de unión 1–53.

Ácidos nucleicos

Se usan metodologías de ADN recombinante estándar para construir los polinucleótidos que codifican los polipéptidos que forman las proteínas de unión, incorporan estos polinucleótidos en vectores de expresión recombinantes e introducen estos vectores en células huésped. Ver, por ejemplo, Sambrook *et al.*, 2001, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 3rd ed.). Se pueden llevar a cabo reacciones enzimáticas y técnicas de purificación de acuerdo con las especificaciones del fabricante, como se realiza comúnmente en la técnica o como se describe en la presente. A menos que se proporcionen definiciones específicas, la nomenclatura utilizada en conexión y los procedimientos y técnicas de laboratorio, química analítica, química orgánica sintética y química medicinal y farmacéutica descrita en la presente son bien conocidas y comúnmente usadas en la técnica. De modo similar, se pueden usar técnicas convencionales para síntesis químicas, análisis químicos, preparación farmacéutica, formulación, suministro y tratamiento de pacientes.

Otros aspectos de la presente descripción se refieren a moléculas de ácido nucleico aisladas que comprenden una secuencia de nucleótidos que codifica cualquiera de las proteínas de unión descritas en la presente. En algunas realizaciones, el ácido nucleico aislado se liga operativamente con un promotor heterólogo para la transcripción directa de la proteína de unión–secuencia de ácido nucleico codificante. Un promotor se puede referir a secuencias de control de ácidos nucleicos que dirigen la transcripción de un ácido nucleico. Una primera secuencia de ácido nucleico se liga operativamente con una segunda secuencia de ácidos nucleicos cuando la primera secuencia de ácidos nucleicos se coloca en una relación funcional con la segunda secuencia de ácidos nucleicos. Por ejemplo, un promotor está operativamente ligado con una secuencia codificante de una proteína de unión si el promotor afecta la transcripción o la expresión de la secuencia codificante. Los ejemplos de promotores pueden incluir, pero sin limitación, promotores obtenidos de los genomas de virus (tales como polioma virus, fowlpox virus, adenovirus (como Adenovirus 2), virus de papiloma bovino, virus de sarcoma aviar, citomegalovirus,

un retrovirus, virus de hepatitis B, Simian Virus 40 (SV40) y similares), de promotores eucariotas heterólogos (como el promotor de actina, un promotor de inmunoglobulina, de promotores de choque térmico y similares), el promotor CAG (Niwa et al., Gene 108(2):193–9, 1991), el promotor de fosfoglicerato quinasa (PGK), un promotor inducible por tetraciclina (Masui et al., Nucleic Acids Res. 33:e43, 2005), el sistema lac, el sistema trp, el sistema tac, el sistema trc, regiones mayores operadoras y promotoras del fago lambda, el promotor para la 3–fosfoglicerato quinasa, los promotores de fosfatasa ácida de levadura y el promotor de los factores de apareamiento alfa de levadura. Los polinucleótidos que codifican proteínas de unión de la presente descripción pueden estar bajo el control de un promotor constitutivo, un promotor inducible o cualquier otro promotor apropiado descrito en la presente u otro promotor apropiado que se reconocerá con facilidad por un experto en la técnica.

En algunas realizaciones, el ácido nucleico aislado se incorpora en un vector. En algunas realizaciones, el vector es un vector de expresión. Los vectores de expresión pueden incluir una o varias secuencias reguladoras operativamente ligadas al polinucleótido por expresar. La expresión "secuencia reguladora" incluye promotores, mejoradores y otros elementos de control de la expresión (por ejemplo, señales de poliadenilación). Los ejemplos de mejoradores apropiados pueden incluir, pero sin limitación, secuencias mejoradoras de genes de mamíferos (tales como globina, elastasa, albúmina, α–fetoproteína, insulina, y similares) y secuencias mejoradoras de un virus de célula eucariota (como mejorador SV40 en el lado tardío del origen de replicación (bp 100–270), el mejorador del promotor temprano de citomegalovirus, el mejorador de polioma en el lado tardío del origen de replicación, mejoradores de adenovirus, y similares). Los ejemplos de vectores apropiados pueden incluir, por ejemplo, plásmidos, cósmidos, episomas, transposones y vectores virales (por ejemplo, adenoviral, vacunas virales, Sindbis–viral, sarampión, herpes viral, lentiviral, retroviral, vectores virales adenoasociados, etc.). Los vectores de expresión se pueden usar para transfectar las

células huésped, tales como, por ejemplo, células bacterianas, células de levadura, células de insectos y células de mamíferos. Los vectores de ADN de plásmido y virales biológicamente funcionales capaces de expresión y replicación en un huésped son conocidos en la técnica y se pueden usar para transfectar cualquier célula de interés.

Otros aspectos de la presente descripción se refieren a un sistema de vectores que comprende uno o varios vectores que codifican una primera, segunda, tercera y cuarta cadena polipeptídica de cualquiera de las proteínas de unión descritas en la presente. En algunas realizaciones, el sistema de vectores comprende un primer vector que codifica la primera cadena polipeptídica de la proteína de unión, un segundo vector que codifica la segunda cadena polipeptídica de la proteína de unión, un tercer vector que codifica la tercera cadena polipeptídica de la proteína de unión y un cuarto vector que codifica la cuarta cadena polipeptídica de la proteína de unión. En algunas realizaciones, el sistema de vectores comprende un primer vector que codifica la primera y la segunda cadena polipeptídica de la proteína de unión y un segundo vector que codifica la tercera y la cuarta cadena polipeptídica de la proteína de unión. En algunas realizaciones, el sistema de vectores comprende un primer vector que codifica la primera y la tercera cadena polipeptídica de la proteína de unión y un segundo vector que codifica la segunda y la cuarta cadena polipeptídica de la proteína de unión. En algunas realizaciones, el sistema de vectores comprende un primer vector que codifica la primera y la cuarta cadena polipeptídica de la proteína de unión y un segundo vector que codifica la segunda y la tercera cadena polipeptídica de la proteína de unión. En algunas realizaciones, el sistema de vectores comprende un primer vector que codifica la primera, la segunda, la tercera y la cuarta cadena polipeptídica de la proteína de unión. Los uno o varios vectores del sistema de vectores puede ser cualquiera de los vectores descritos en la presente. En algunas realizaciones, los uno o varios vectores son vectores de expresión.

Células huésped aisladas

Otros aspectos de la presente descripción se refieren a una célula huésped aislada que comprende uno o varios polinucleótidos aislados, vectores y/o sistemas de vectores descritos en la presente. En algunas realizaciones, la célula huésped es una célula bacteriana (por ejemplo, una célula de *E. coli*). En algunas realizaciones, la célula huésped es una célula de levadura (por ejemplo, una célula de *S. cerevisiae*). En algunas realizaciones, la célula huésped es una célula de insecto. Los ejemplos de células huésped de insectos pueden incluir, por ejemplo, células de Drosophila (por ejemplo, células S2), células de Trichoplusia ni (por ejemplo, células High Five™) y células de Spodoptera frugiperda (por ejemplo, células Sf21 o Sf9). En algunas realizaciones, la célula huésped es una célula de mamífero. Los ejemplos de células huésped de mamífero pueden incluir, por ejemplo, células de riñón embrionario humano (por ejemplo, 293 o 293 células subclonadas para el crecimiento en cultivo en suspensión), células Expi293TM, células CHO, células de riñón de hámster bebé (por ejemplo, BHK, ATCC CCL 10), células sertoli de ratón (por ejemplo, células TM4), células de riñón de mono (por ejemplo, CV1 ATCC CCL 70), células de riñón de mono verde africano (por ejemplo, VERO–76, ATCC CRL–1587), células de carcinoma cervical humano (por ejemplo, HELA, ATCC CCL 2), células de riñón canino (por ejemplo, MDCK, ATCC CCL 34), células de hígado de rata y búfalo (por ejemplo, BRL 3A, ATCC CRL 1442), células de pulmón humano (por ejemplo, W138, ATCC CCL 75), células de hígado humano (por ejemplo, Hep G2, HB 8065), células de tumor mamario de ratón (por ejemplo, MMT 060562, ATCC CCL51), células TRI, células MRC 5, células FS4, línea de hepatoma humano (por ejemplo, Hep G2) y células de mieloma (por ejemplo, células NS0 y Sp2/0).

Otros aspectos de la presente descripción se refieren a un método de producción de cualquiera de las proteínas de unión descritas en la presente. En algunas realizaciones, el método incluye a) cultivar una célula huésped (por ejemplo, cualquiera de las células huésped descritas en la presente) que comprende un ácido nucleico aislado, vector y/o sistema de vectores (por ejemplo, cualquiera de los ácidos nucleicos aislados, vectores y/o

sistemas de vectores descritos en la presente) en condiciones tales que la célula huésped exprese la proteína de unión; y b) aislar la proteína de unión de la célula huésped. Los métodos de cultivo de células huésped en condiciones para expresar una proteína son bien conocidos por un experto en la técnica. Los métodos de aislamiento de proteínas de células huésped cultivadas son bien conocidas por un experto en la técnica, incluyendo, por ejemplo, por cromatografía por afinidad (por ejemplo, cromatografía por afinidad de dos etapas que comprende la cromatografía por afinidad de proteína A seguida por cromatografía por exclusión de tamaño).

Usos de proteínas de unión

Las proteínas de unión se pueden emplear en cualquier método de ensayo conocido, como ensayos de unión competitivos, ensayos sándwich directo e indirecto y ensayos de inmunoprecipitación para la detección y la cuantificación de uno o varios antígenos blanco. Las proteínas de unión se unirán con uno o varios antígenos blanco con una afinidad que es apropiada para el método de ensayo que se emplea.

Para aplicaciones diagnósticas, en ciertas realizaciones, las proteínas de unión se pueden rotular con un resto detectable. El resto detectable puede ser cualquiera que sea capaz de producir, ya sea directa o indirectamente, una señal detectable. Por ejemplo, el resto detectable puede ser un radioisótopo, tales como ^{3}H, ^{14}C, ^{32}P, ^{35}S, ^{125}I, ^{99}Tc, ^{111}In o ^{67}Ga; un compuesto fluorescente o quimioluminiscente, tales como isotiocianato de fluoresceína, rodamina o luciferina; o una enzima, tales como fosfatasa alcalina, β–galactosidasa o peroxidasa de rábano picante.

Las proteínas de unión también son de utilidad para toma de imágenes in *vivo*. Una proteína de unión marcada con un resto detectable se puede administrar a un animal, con preferencia, en el torrente sanguíneo y la presencia y la ubicación del anticuerpo marcado en el huésped ensayado. La proteína de unión se puede rotular con cualquier resto que es detectable en un animal, ya sea por resonancia magnética nuclear, radiología u otro medio de detección conocido en la técnica.

Las proteínas de unión también se pueden usar para la activación celular, direccionamiento tumoral, neutralización de actividades de citoquinas, neutralización de infección viral, combinación de múltiples eventos de señalización, para tratar cáncer, artritis y/o trastornos inflamatorios. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una proteína de unión se une específicamente con uno, dos o tres dianas de antígenos seleccionados de A2AR, APRIL, ATPDasa, BAFF, BAFFR, BCMA, BliS, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4 (también conocida como VTCN1), B7H5, B7H6, B7H7, B7RP1, B7–4, C3, C5, CCL2 (también conocida como MCP–1), CCL3 (también conocida como MIP–1a), CCL4 (también conocida como MIP–1b), CCL5 (también conocida como RANTES), CCL7 (también conocida como MCP–3), CCL8 (también conocida como mcp–2), CCL11 (también conocida como eotaxina), CCL15 (también conocida como MIP–1d), CCL17 (también conocida como TARC), CCL19 (también conocida como MIP–3b), CCL20 (también conocida como MIP–3a), CCL21 (también conocida como MIP–2), CCL24 (también conocida como MPIF–2/eotaxina–2), CCL25 (también conocida como TECK), CCL26 (también conocida como eotaxina–3), CCR3, CCR4, CD3, CD19, CD20, CD23 (también conocida como FCER2, un receptor para IgE), CD24, CD27, CD28, CD38, CD39, CD40, CD70, CD80 (también conocida como B7–1), CD86 (también conocida como B7–2), CD122, CD137 (también conocida como 41BB), CD317L, CD152 (también conocida como CTLA4), CD154 (también conocida como CD40L), CD160, CD272, CD273 (también conocida como PDL2), CD274 (también conocida como PDL1), CD275 (también conocida como B7H2), CD276 (también conocida como B7H3), CD278 (también conocida como ICOS), CD279 (también conocida como PD–1), CDH1 (también conocida como E–cadherina), quitinasa, CLEC9, CLEC91, CRTH2, CSF–1 (también conocida como M–CSF), CSF–2 (también conocida como GM–CSF), CSF–3 (también conocida como GCSF), CX3CL1 (también conocida como SCYD1), CXCL12 (también conocida como SDF1), CXCL13, CXCR3, DNGR–1, ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa 1, EGFR, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, Gi24, GITR, GITRL, GM–CSF, Her2, HHLA2, HMGB1, HVEM, ICOSLG, IDO, IFNα, IgE, IGF1R,

IL2Rbeta, IL1, IL1A, IL1B, IL1F10, IL2, IL4, IL4Ra, IL5, IL5R, IL6, IL7, IL7Ra, IL8, IL9, IL9R, IL10, rhIL10, IL12, IL13, IL13Ra1, IL13Ra2, IL15, IL17, IL17Rb (también conocida como receptor para IL25), IL18, IL22, IL23, IL25, IL27, IL33, IL35, ITGB4 (también conocida como b4 integrina), ITK, KIR, LAG3, LAMP1, leptina, LPFS2, MHC clase II, NCR3LG1, NKG2D, NTPDasa–1, OX40, OX40L, PD–1H, receptor plaquetario, PROM1, S152, SISP1, SLC, SPG64, ST2 (también conocida como receptor para IL33), STEAP2, Syk quinasa, TACL, TDO, T14, TIGIT, TIM3, TLR, TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, TMEF1, TNFa, TNFRSF7, Tp55, TREM1, TSLP (también conocida como co-receptor para IL7Ra), TSLPR, TWEAK, VEGF, VISTA, Vstm3, WUCAM y XCR1 (también conocida como GPR5/CCXCR1). En algunas realizaciones, uno o varios de los anteriores dianas de antígenos son dianas de antígenos humanos.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción se administra a un paciente que lo necesita para el tratamiento o la prevención del cáncer. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la proteína de unión comprende un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína de superficie de células T y otro sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral (por ejemplo, dos sitios de unión a antígeno que específicamente unen proteínas de superficie de células T y un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral o dos sitios de unión a antígeno que específicamente unen proteínas diana tumorales y un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína de superficie de células T). En ciertas realizaciones, la proteína de unión comprende un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3, un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 y un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral seleccionada de CD19, CD20, CD38, Her2 y LAMP1. En algunas realizaciones, la proteína de unión se coadministra con un agente quimioterapéutico. En algunas realizaciones, es paciente es un humano.

En algunas realizaciones, una proteína de unión de la presente descripción se administra a un paciente que lo necesita para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o trastorno inflamatorios. En algunas realizaciones, la proteína de unión comprende tres sitios de unión a antígeno que se unen cada uno específicamente con una proteína diana de citoquina seleccionada de IL–4, IL–13 y TNFa. En algunas realizaciones, la proteína de unión se coadministra con un agente antiinflamatorio. En algunas realizaciones, es paciente es un humano.

La descripción también se refiere a un kit que comprende una proteína de unión y otros reactivos útiles para detectar los niveles de antígenos blanco en muestras biológicas. Estos reactivos pueden incluir un rótulo detectable, suero de bloqueo, muestras de control positivo y negativo y reactivos de detección. En algunas realizaciones, el kit comprende una composición que comprende cualquier proteína de unión, polinucleótido, vector, sistema de vector y/o célula huésped descritos en la presente. En algunas realizaciones, el kit comprende un recipiente y una etiqueta o prospecto del envase o asociado con el recipiente. Los recipientes apropiados incluyen, por ejemplo, botellas, viales, jeringas, bolsas de solución IV, etc. Los recipientes se pueden formar a partir de una variedad de materiales tales como vidrio o plástico. El recipiente mantiene una composición por sí misma o combinada con otra composición efectiva para el tratamiento, prevención y/o diagnóstico de una condición y puede tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tiene un tapón perforable por medio de una aguja de inyección hipodérmica). En algunas realizaciones, la etiqueta o el prospecto del envase indica que la composición se usa para prevenir, diagnosticar y/o tratar la condición de elección. Alternativa o adicionalmente, el artículo de fabricación o el kit también puede comprender un segundo (o tercer) recipiente que comprende un tampón farmacéuticamente aceptable, tal como agua bacteriostática para inyección (BWFI), solución salina tamponada con fosfato, solución de Ringer y solución de

dextrosa. También puede incluir otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y del usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas y jeringas.

Composiciones terapéuticas de la proteína de unión y su administración

Las composiciones terapéuticas o farmacéuticas que comprenden proteínas de unión están dentro del alcance de la descripción. Tales composiciones terapéuticas o farmacéuticas pueden comprender una cantidad terapéuticamente efectiva de una proteína de unión, o conjugado de proteína de unión–fármaco, en mezcla con un agente de formulación farmacéutica o fisiológicamente aceptable seleccionado para su adecuación con el modo de administración.

Los materiales de formulación aceptables con preferencia son no tóxicos para los receptores en las dosis y concentraciones empleadas.

La composición farmacéutica puede contener materiales de formulación para modificar, mantener o conservar, por ejemplo, el pH, osmolaridad, viscosidad, transparencia, color, isotonicidad, olor, esterilidad, estabilidad, velocidad de disolución o liberación, adsorción o penetración de la composición. Los materiales de formulación adecuados incluyen, pero sin limitación, aminoácidos (tales como glicina, glutamina, asparagina, arginina o lisina), antimicrobianos, antioxidantes (tales como ácido ascórbico, sulfito sódico o hidrogeno sulfito de sodio), tampones (tales como borato, bicarbonato, Tris–HCl, citratos, fosfatos u otros ácidos orgánicos), agentes de carga (tales como manitol o glicina), agentes quelantes (tales como ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)), agentes complejantes (tales como cafeína, polivinilpirrolidona, beta–ciclodextrina o hidroxipropil–beta–ciclodextrina), cargas, monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos (tales como glucosa, manosa o dextrinas), proteínas (tales como albúmina sérica, gelatina o inmunoglobulinas), agentes colorantes, saborizantes y diluyentes, agentes emulsionantes, polímeros hidrofílicos (tales como polivinilpirrolidona), polipéptidos de bajo peso molecular, contraiones formadores de sal (tales como sodio), conservantes (tales como cloruro de benzalconio, ácido benzoico, ácido salicílico, timerosal, alcohol fenetílico, metilparabeno,

propilparabeno, clorhexidina, ácido sórbico o peróxido de hidrógeno), solventes (tales como glicerina, propilenglicol o polietilenglicol), alcoOjals de azúcar (tales como manitol o sorbitol), agentes de suspensión, agentes tensioactivos o humectantes (tales como plurónicos; PEG; ésteres de sorbitano; polisorbatos tales como polisorbato 20 o polisorbato 80; tritón; trometamina; lecitina; colesterol o tiloxapal), agentes potenciadores de la estabilidad (tales como sacarosa o sorbitol), agentes potenciadores de la tonicidad (tales como haluros de metal alcalino – con preferencia cloruro de sodio o potasio – o manitol sorbitol), vehículos de administración, diluyentes, excipientes y/o adyuvantes farmacéuticos, por ejemplo, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES (18th Ed., A.R. Gennaro, ed., Mack Publishing Company 1990), y sus ediciones posteriores, incorporadas en la presente como referencia para cualquier propósito).

La composición farmacéutica óptima será determinada por un experto en la técnica, de acuerdo con, por ejemplo, la vía de administración prevista, formato de administración y dosis deseada. Dichas composiciones pueden influir en el estado físico, estabilidad, velocidad de liberación in vivo y velocidad de eliminación in vivo de la proteína de unión.

El vehículo o vehículo primario en una composición farmacéutica puede tener naturaleza acuosa o no acuosa. Por ejemplo, un vehículo o portador adecuado para inyección puede ser agua, solución salina fisiológica o líquido cefalorraquídeo artificial, posiblemente suplementado con otros materiales comunes en composiciones para administración parenteral. La solución salina tamponante neutra o solución salina mezclada con albúmina sérica son ejemplos de vehículos adicionales. Otros ejemplos de composiciones comprenden tampón Tris de aproximadamente pH 7,0–8,5, o tampón acetato de aproximadamente pH 4,0–5,5, que puede incluir además sorbitol o un sustituto adecuado. En una realización de la descripción, se pueden preparar composiciones de proteínas de unión para el almacenamiento mediante la mezcla de la composición seleccionada que tiene el grado deseado de pureza con agentes de formulación opcionales

en forma de una torta liofilizada o una solución acuosa. Además, la proteína de unión se puede formular como un liofilizado usando excipientes apropiados tales como sacarosa.

Las composiciones farmacéuticas de la descripción se pueden seleccionar para administración parenteral o subcutánea. Alternativamente, las composiciones se pueden seleccionar para inhalación o para su administración a través del tracto digestivo, tal como por vía oral. La preparación de tales composiciones farmacéuticamente aceptables está dentro de la experiencia de la técnica.

Los componentes de la formulación están presentes en concentraciones que son aceptables para el sitio de administración. Por ejemplo, se usan taampones para mantener la composición a pH fisiológico o a un pH ligeramente inferior, típicamente dentro de un rango de pH de aproximadamente 5 a aproximadamente 8.

Cuando se contempla la administración parenteral, las composiciones terapéuticas para usar pueden estar en forma de una solución acuosa libre de pirógenos, aceptable para uso parenteral, que comprende la proteína de unión deseada en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Un vehículo particularmente adecuado para la inyección parenteral es agua destilada estéril en la que una proteína de unión se formula como una solución isotónica estéril, adecuadamente conservada. Todavía otra preparación puede involucrar la formulación de la molécula deseada con un agente, tal como microesferas inyectables, partículas bioerosionables, compuestos poliméricos (tales como ácido poliláctico o ácido poliglicólico), perlas o liposomas, que proporciona la liberación controlada o sostenida del producto que luego se puede administrar a través de una inyección de depósito. También se puede usar ácido hialurónico, y esto puede tener el efecto de promover una duración sostenida en la circulación. Otros medios adecuados para la introducción de la molécula deseada incluyen dispositivos de administración de fármacos implantables.

En una realización, una composición farmacéutica se puede formular para inhalación. Por ejemplo, una proteína de unión se puede formular como un polvo seco para

inhalación. Las soluciones de inhalación de proteínas de unión también se pueden formular con un propulsor para la administración de aerosoles. En otra realización más, las soluciones se pueden nebulizar.

También se contempla que ciertas formulaciones se pueden administrar por vía oral. En una realización de la descripción, las proteínas de unión que se administran de esta manera se pueden formular con o sin los portadores habitualmente utilizados en la composición de formas de dosis sólidas tales como comprimidos y cápsulas. Por ejemplo, se puede diseñar una cápsula para liberar la porción activa de la formulación en el punto del tracto gastrointestinal donde se maximiza la biodisponibilidad y se minimiza la degradación presistémica. Se pueden incluir agentes adicionales para facilitar la absorción de la proteína de unión. También se pueden emplear diluyentes, saborizantes, ceras de bajo punto de fusión, aceites vegetales, lubricantes, agentes de suspensión, agentes desintegrantes de comprimidos y aglutinantes.

Otra composición farmacéutica puede implicar una cantidad efectiva de proteínas de unión en una mezcla con excipientes no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Mediante la disolución de los comprimidos en agua estéril u otro vehículo apropiado, las soluciones se pueden preparar en forma de dosis unitaria. Los excipientes adecuados incluyen, pero sin limitación, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato o bicarbonato de sodio, lactosa o fosfato de calcio; o agentes aglutinantes, tales como almidón, gelatina o acacia; o agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco.

Las composiciones farmacéuticas adicionales de la descripción serán evidentes para los expertos en la técnica, que incluyen las formulaciones que implican proteínas de unión en formulaciones de liberación sostenida o controlada. Las técnicas para formular una variedad de otros medios de liberación sostenida o controlada, tales como portadores de liposomas, micropartículas bioerosionables o perlas porosas e inyecciones de depósito, también son conocidas por los expertos en la técnica. Los ejemplos adicionales de

preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices poliméricas semipermeables en forma de artículos moldeados, por ejemplo, películas o microcápsulas. Las matrices de liberación sostenida pueden incluir poliésteres, hidrogeles, poliláctidos, copolímeros de ácido L–glutámico y gamma–etil–L–glutamato, poli(2–hidroxietil–metacrilato), acetato de etilenvinilo o ácido poli–D(–)–hidroxibutírico. Las composiciones de liberación sostenida también pueden incluir liposomas, que se pueden preparar por cualquiera de varios métodos conocidos en la técnica.

Las composiciones farmacéuticas para usar para la administración in vivo típicamente deben ser estériles. Esto se puede conseguir por filtración a través de membranas de filtración estériles. Cuando la composición se liofiliza, la esterilización mediante este método se puede llevar a cabo ya sea antes o después de la liofilización y reconstitución. La composición para administración parenteral se puede almacenar en forma liofilizada o en una solución. Además, las composiciones parenterales se colocan generalmente en un recipiente que tiene un orificio de acceso estéril, por ejemplo, una bolsa o vial de solución intravenosa que tiene un tapón perforable por una aguja de inyección hipodérmica.

Una vez formulada la composición farmacéutica, se puede almacenar en viales estériles como una solución, suspensión, gel, emulsión, sólido o como un polvo deshidratado o liofilizado. Tales formulaciones se pueden almacenar en una forma lista para usar o en una forma (por ejemplo, liofilizada) que requiere reconstitución antes de la administración.

La descripción también abarca kits para producir una unidad de administración de dosis única. Los kits pueden contener cada uno un primer recipiente que tiene una proteína seca y un segundo recipiente que tiene una formulación acuosa. También se incluyen dentro del alcance de esta descripción los kits que contienen jeringas precargadas de una o varias cámaras (por ejemplo, jeringas líquidas y liojeringas).

La cantidad efectiva de una composición farmacéutica de proteína de unión para emplear terapéuticamente dependerá, por ejemplo, del contexto terapéutico y los objetivos. Un experto en la técnica apreciará que los niveles de dosis apropiados para el tratamiento en consecuencia variarán dependiendo, en parte, de la molécula administrada, de la indicación para la que se está usando la proteína de unión, la vía de administración y el tamaño (peso corporal, superficie corporal o tamaño del órgano) y la condición (edad y salud general) del paciente. Por consiguiente, el médico puede ajustar la dosis y modificar la vía de administración para obtener el efecto terapéutico óptimo.

La frecuencia de dosificación dependerá de los parámetros farmacocinéticos de la proteína de unión en la formulación que se utiliza. Típicamente, un clínico administrará la composición hasta alcanzar una dosis que consiga el efecto deseado. Por lo tanto, la composición se puede administrar como una dosis única, como dos o más dosis (que pueden contener o no la misma cantidad de la molécula deseada) con el tiempo, o como una infusión continua a través de un dispositivo de implantación o catéter. El refinamiento adicional de la dosis apropiada se realiza de rutina por los expertos en la técnica y está dentro del ámbito de las tareas realizadas rutinariamente por ellos. Se pueden determinar dosis apropiadas mediante el uso de datos de dosis–respuesta apropiados.

La vía de administración de la composición farmacéutica está de acuerdo con métodos conocidos, por ejemplo, por vía oral; mediante inyección por vías intravenosa, intraperitoneal, intracerebral (intraparenquimal), intracerebroventricular, intramuscular, intraocular, intraarterial, intraportal o intralesional; por sistemas de liberación sostenida; o por dispositivos de implantación. Cuando se desea, las composiciones se pueden administrar por inyección en bolo o continuamente por infusión, o por dispositivo de implantación.

La composición también se puede administrar localmente mediante la implantación de una membrana, esponja u otro material apropiado sobre el que se ha absorbido o encapsulado la molécula deseada. Cuando se utiliza un dispositivo de implantación, el

dispositivo se puede implantar en cualquier tejido u órgano adecuado, y administración de la molécula deseada puede ser vía difusión, bolo de liberación programada administración continua.

En algunas realizaciones, la presente descripción se refiere a un método para prevenir y/o tratar una enfermedad o trastorno proliferativo (por ejemplo, cáncer). En algunas realizaciones, el método comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos una de las proteínas de unión descritas en la presente. En algunas realizaciones, el paciente es un ser humano. En algunas realizaciones, la al menos una proteína de unión se administra en combinación con una o más terapias anticáncer (por ejemplo, cualquier terapia anticáncer conocida en la técnica). En algunas realizaciones, la al menos una proteína de unión se administra antes de una o más terapias anticáncer. En algunas realizaciones, la al menos una proteína de unión se administra concurrentemente con una o más terapias anticáncer. En algunas realizaciones, la al menos una proteína de unión se administra después de una o más terapias antirretrovirales.

En algunas realizaciones, la presente descripción se refiere a un método para prevenir y/o tratar una enfermedad o trastorno inflamatorio (por ejemplo, cáncer). En algunas realizaciones, el método comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos una de las proteínas de unión descritas en la presente. En algunas realizaciones, el paciente es un ser humano. En algunas realizaciones, la al menos una proteína de unión se administra en combinación con una o más terapias antiinflamatorias (por ejemplo, cualquier terapia antiinflamatoria conocida en la técnica). En algunas realizaciones, la al menos una proteína de unión se administra antes de una o más terapias antiinflamatorias. En algunas realizaciones, la al menos una proteína de unión se administra concurrentemente con la una o más terapias antiinflamatorias. En algunas realizaciones, la al menos una proteína de unión se administra después de una o más terapias antiinflamatorias.

Sin limitar la presente descripción, se describen una cantidad de realizaciones de la presente descripción más abajo con fines ilustrativas.

Ítem 1: Una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno que se unen específicamente a una o varias proteínas diana, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}–C_{H1} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}–C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada C_{H1} de inmunoglobulina; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

y en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada.

Ítem 2: Una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno que se unen específicamente a una o varias proteínas diana, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}–C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada C_{H1} de inmunoglobulina;

C_{H2} es un dominio constante de cadena pesada C_{H2} de inmunoglobulina;

C_{H3} es un dominio constante de cadena pesada C_{H3} de inmunoglobulina;

bisagra es una región bisagra de inmunoglobulina que conecta los dominios C_{H1} y C_{H2}; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

y en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un

par de cadena ligera–cadena pesada cruzada.

Ítem 3: La proteína de unión del ítem 1, en donde la segunda y/o la tercera cadena polipeptídica también comprende una región Fc ligada con C_{H1}, en donde la región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}.

Ítem 4: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 1–3, en donde al menos uno de L_1, L_2, L_3 o L_4 tiene independientemente 0 aminoácidos de longitud.

Ítem 5: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 1–3, en donde L_1, L_2, L_3 o L_4 tienen cada uno, de modo independiente, al menos un aminoácido de largo.

Ítem 6: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 1–3 y 5, en donde wherein (a) L_1, L_2, L_3 y L_4 cada uno independientemente tienen cero aminoácidos de longitud o comprenden una secuencia seleccionada del grupo que consiste en GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:104), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:105), S, RT, TKGPS (SEQ ID NO:106), GQPKAAP (SEQ ID NO: 175), y GGSGSSGSGG (SEQ ID NO:148); o (b) L_1, L_2, L_3 y L_4 comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia seleccionada del grupo que consiste en GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105), S, RT, TKGPS (SEQ ID NO: 106), GQPKAAP (SEQ ID NO: 175) y GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148).

Ítem 7: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 1–5, en donde

(a) L_1 comprende la secuencia GQPKAAP (SEQ ID NO: 175), L_2 comprende la secuencia TKGPS (SEQ ID NO: 106), L_3 comprende la secuencia S y L_4 comprende la secuencia RT;

(b) L_1 comprende la secuencia GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), L_2 comprende la secuencia GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), L_3 tiene 0 aminoácidos de longitud y L_4 tiene 0 aminoácidos de longitud;

(c) L_1 comprende la secuencia GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148), L_2 comprende la secuencia GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148), L_3 tiene 0 aminoácidos de longitud y L_4 tiene 0 aminoácidos de longitud; o

(d) L_1 comprende la secuencia GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105), L_2 tiene 0 aminoácidos de longitud, L_3 comprende la secuencia GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105) y L_4 tiene 0 aminoácidos de longitud.

Ítem 8: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 1–7, en donde la proteína de unión es triespecífica y capaz de unir específicamente tres diferentes dianas de antígenos.

Ítem 9: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 1–8, en donde la proteína de unión se une específicamente tres proteínas diana que corresponden a dos proteínas diana en células T y a una proteína diana tumoral.

Ítem 10: La proteína de unión del ítem 9, en donde una de dichas proteínas diana en células T es CD3.

Ítem 11: La proteína de unión del ítem 9 o el ítem 10, en donde una de dichas proteínas diana en células T es CD28.

Ítem 12: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 9–11, en donde dicha proteína diana tumorales CD38.

Ítem 13: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 1–8, en donde la proteína de unión se une específicamente tres proteínas diana que corresponden a dos proteínas diana en células T y a una proteína diana seleccionada del grupo que consiste en A2AR, APRIL, ATPDasa, BAFF, BAFFR, BCMA, BlyS, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, B7H5, B7H6, B7H7, B7RP1, B7–4, C3, C5, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CCL15, CCL17, CCL19, CCL20, CCL21, CCL24, CCL25, CCL26, CCR3, CCR4, CD3, CD19, CD20, CD23, CD24, CD27, CD28, CD38, CD39, CD40, CD70, CD80, CD86, CD122, CD137, CD137L, CD152, CD154, CD160, CD272, CD273, CD274, CD275, CD276, CD278, CD279, CDH1, quitinasa, CLEC9, CLEC91, CRTH2, CSF–1, CSF–2, CSF–3, CX3CL1,

CXCL12, CXCL13, CXCR3, DNGR–1, ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa 1, EGFR, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1, Gi24, GITR, GITRL, GM–CSF, Her2, HHLA2, HMGB1, HVEM, ICOSLG, IDO, IFNα, IgE, IGF1R, IL2Rbeta, IL1, IL1A, IL1B, IL1F10, IL2, IL4, IL4Ra, IL5, IL5R, IL6, IL7, IL7Ra, IL8, IL9, IL9R, IL10, rhIL10, IL12, IL13, IL13Ra1, IL13Ra2, IL15, IL17, IL17Rb, IL18, IL22, IL23, IL25, IL27, IL33, IL35, ITGB4, ITK, KIR, LAG3, LAMP1, leptina, LPFS2, MHC clase II, NCR3LG1, NKG2D, NTPDasa–1, OX40, OX40L, PD–1H, receptor plaquetario, PROM1, S152, SISP1, SLC, SPG64, ST2, SREAP2, Syk quinasa, TACI, TDO, T14, TIGIT, TIM3, TLR, TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, TMEF1, TNFa, TNFRSF7, Tp55, TREM1, TSLP, TSLPR, TWEAK, VEGF, VISTA, Vstm3, WUCAM y XCR1.

Ítem 14: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 1–13, en donde la proteína de unión es capaz de inhibir la función de una o varias proteínas diana.

Ítem 15: La proteína de unión del ítem 14, en donde las una o varias proteínas diana se seleccionan del grupo que consiste en A2AR, APRIL, ATPDasa, BAFF, BAFFR, BCMA, BlyS, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, B7H5, B7H6, B7H7, B7RP1, B7–4, C3, C5, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CCL15, CCL17, CCL19, CCL20, CCL21, CCL24, CCL25, CCL26, CCR3, CCR4, CD3, CD19, CD20, CD23, CD24, CD27, CD28, CD38, CD39, CD40, CD70, CD80, CD86, CD122, CD137, CD137L, CD152, CD154, CD160, CD272, CD273, CD274, CD275, CD276, CD278, CD279, CDH1, quitinasa, CLEC9, CLEC91, CRTH2, CSF–1, CSF–2, CSF–3, CX3CL1, CXCL12, CXCL13, CXCR3, DNGR–1, ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa 1, EGFR, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, FOLH1Gi24, GITR, GITRL, GM–CSF, Her2, HHLA2, HMGB1, HVEM, ICOSLG, IDO, IFNα, IgE, IGF1R, IL2Rbeta, IL1, IL1A, IL1B, IL1F10, IL2, IL4, IL4Ra, IL5, IL5R, IL6, IL7, IL7Ra, IL8, IL9, IL9R, IL10, rhIL10, IL12, IL13, IL13Ra1, IL13Ra2, IL15, IL17, IL17Rb, IL18, IL22, IL23, IL25, IL27, IL33, IL35, ITGB4, ITK, KIR, LAG3, LAMP1, leptina, LPFS2, MHC clase II, NCR3LG1, NKG2D, NTPDasa–1, OX40, OX40L, PD–1H, receptor plaquetario, PROM1, S152, SISP1, SLC, SPG64, ST2, STEAP2, Syk quinasa, TACI, TDO, T14, TIGIT,

TIM3, TLR, TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, TNFa, TNFRSF7, Tp55, TREM1, TSLP, TSLPR, TWEAK, VEGF, VISTA, Vstm3, WUCAM y XCR1.

Ítem 16: Una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígenos, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}–C_{H1} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}–C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina CH1; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada;

en donde:

(a) V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs:151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165 y 167; o

(b) $V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs: 43–59, 123–125, 138–140 y 149; y

en donde:

(a) $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs:150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164 y 166; o

(b) V_{H1}, V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad que comprenden una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de las SEQ ID NOs: 25–42, 120–122, y 126–128.

Ítem 17: Una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígenos, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}–C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina CH1;

C_{H2} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina CH2;

C_{H3} es un dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina CH3;

bisagra es una región bisagra de inmunoglobulina que conecta los dominios CH1 y CH2; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada;

en donde:

(a) V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs:151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165 y 167; o

(b) $V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs: 43–59, 123–125, 138–140 y 149; y

en donde:

(a) $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs:150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164 y 166; o

(b) V_{H1}, V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada que comprenden una secuencia de aminoácidos como se establece en cualquiera de SEQ ID NOs: 25–42, 120–122 y 126–128.

Ítem 18: La proteína de unión del ítem 16, en donde la segunda y/o la tercera cadena polipeptídica también comprende una región Fc ligada con C_{H1}, en donde la región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}.

Ítem 19: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 16–18, en donde al menos uno de L_1, L_2, L_3 o L_4, tiene independientemente 0 aminoácidos de longitud.

Ítem 20: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 16–18, en donde L_1, L_2, L_3 o L_4 tienen cada uno, de modo independiente, al menos un aminoácido de largo.

Ítem 21: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 16–18, en donde (a) L_1, L_2, L_3 y L_4, cada uno independientemente, tienen una longitud de cero aminoácidos o comprenden una secuencia seleccionada del grupo que consiste en GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), GGGGSGGGGGGGGGGGS (SEQ ID NO: 105), S, RT, TKGPS (SEQ ID NO: 106), GQPKAAP (SEQ ID NO: 175) y GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148); o (b)L_1, L_2, L_3 y L_4 comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia seleccionada del grupo que consiste en GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105), S, RT, TKGPS (SEQ ID NO: 106), GQPKAAP (SEQ ID NO: 175) y GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148).

Ítem 22: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 16–18, en donde:

(a) L_1 comprende la secuencia GQPKAAP (SEQ ID NO: 175), L_2 comprende la secuencia TKGPS (SEQ ID NO: 106), L_3 comprende la secuencia S y L_4 comprende la secuencia RT;

(b) L_1 comprende la secuencia GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), L_2 comprende la secuencia GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), L_3 tiene 0 aminoácidos de longitud y L_4 tiene 0 aminoácidos de longitud;

(c) L_1 comprende la secuencia GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148), L_2 comprende la secuencia GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148), L_3 tiene 0 aminoácidos de longitud y L_4 tiene 0 aminoácidos de longitud; o

(d) L_1 comprende la secuencia GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105), L_2 tiene 0 aminoácidos de longitud, L_3 comprende la secuencia GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105) y L_4 tiene 0 aminoácidos de longitud.

Ítem 23: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 16–22, en donde:

(a) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47, y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43, una CDR–L2 que comprende

la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45;

(b) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:43, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45;

(c) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2

que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57;

(d) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:37, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:38 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:39; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:55, una CDR–L2 que comprende

la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57;

(e) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59;

(f) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2

que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:40, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:41 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59;

(g) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138, una CDR–L2 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140;

(h) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140;

(i) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2

que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 120, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 121 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 122; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125; o

(j) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 120, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 121 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 122; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123, una CDR–L2 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125.

Ítem 24: Una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}–C_{H1} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}–C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada C_{H1} de inmunoglobulina; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada;

en donde:

(a) V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 169, 171 y 173; o

(b) $V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 141–147, 178 y 179; y

en donde:

(a) $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 168, 170 y 172; o

(b) $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 129–137.

Ítem 25: Una proteína de unión que comprende cuatro cadenas polipeptídicas que forman tres sitios de unión a antígeno, en donde una primera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L2}–L_1–V_{L1}–L_2–C_L \qquad [I]$$

y una segunda cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H1}–L_3–V_{H2}–L_4–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [II]$$

y una tercera cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{H3}–C_{H1}–\text{bisagra}–C_{H2}–C_{H3} \qquad [III]$$

y una cuarta cadena polipeptídica comprende una estructura representada por la fórmula:

$$V_{L3}–C_L \qquad [IV]$$

en donde:

V_{L1} es un primer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L2} es un segundo dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{L3} es un tercer dominio variable de cadena ligera de inmunoglobulina;

V_{H1} es un primer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H2} es un segundo dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

V_{H3} es un tercer dominio variable de cadena pesada de inmunoglobulina;

C_L es un dominio constante de cadena ligera de inmunoglobulina;

C_{H1} es un dominio constante de cadena pesada C_{H1} de inmunoglobulina;

C_{H2} es un dominio constante de cadena pesada C_{H2} de inmunoglobulina;

C_{H3} es un dominio constante de cadena pesada C_{H3} de inmunoglobulina;

bisagra es una región bisagra de inmunoglobulina que conecta los dominios C_{H1} y C_{H2}; y

L_1, L_2, L_3 y L_4 son ligadores de aminoácidos;

en donde el polipéptido de la fórmula I y el polipéptido de la fórmula II forman un par de cadena ligera–cadena pesada cruzada;

en donde:

(a) V_{L1}, V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 169, 171 y 173; o

(b) $V_{L1,}$ V_{L2} y V_{L3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 141–147, 178 y 179; y

en donde:

(a) $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia de dominio variable establecida en cualquiera de las SEQ ID NOs: 168, 170 y 172; o

(b) $V_{H1,}$ V_{H2} y V_{H3} comprenden cada uno, de modo independiente, regiones determinantes de complementariedad de cadena pesada que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 129–137.

Ítem 26: La proteína de unión del ítem 24, en donde la segunda cadena polipeptídica también comprende una región Fc ligada con C_{H1}, en donde la región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}.

Ítem 27: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 24–26, en donde al menos uno de L_1, L_2, L_3 y L_4, tiene independientemente 0 aminoácidos de longitud.

Ítem 28: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 24–26, en donde L_1, L_2, L_3 y L_4 tienen cada uno, de modo independiente, al menos un aminoácido de largo.

Ítem 29: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 24–26 y 28, en donde (a) L_1, L_2, L_3 y L_4 cada uno independientemente, tienen una longitud de cero aminoácidos o comprenden una secuencia seleccionada del grupo que consiste en GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:104), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:105), S, RT, TKGPS (SEQ ID NO:106), GQPKAAP (SEQ ID NO: 175), and GGSGSSGSGG (SEQ ID NO:148); o (b) L_1, L_2, L_3 y L_4 comprenden cada uno, de modo independiente, una secuencia seleccionada del grupo que consiste en GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105), S, RT, TKGPS (SEQ ID NO: 106), GQPKAAP (SEQ ID NO: 175) y GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148).

Ítem 30: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 24–26, en donde:

(a) L_1 comprende la secuencia GQPKAAP (SEQ ID NO: 175), L_2 comprende la secuencia TKGPS (SEQ ID NO: 106), L_3 comprende la secuencia S y L_4 comprende la secuencia RT;

(b) L_1 comprende la secuencia GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), L_2 comprende la secuencia GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 104), L_3 tiene 0 aminoácidos de longitud y L_4 tiene 0 aminoácidos de longitud;

(c) L_1 comprende la secuencia GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148), L_2 comprende la secuencia GGSGSSGSGG (SEQ ID NO: 148), L_3 tiene 0 aminoácidos de longitud y L_4 tiene 0 aminoácidos de longitud; o

(d) L_1 comprende la secuencia GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105), L_2 tiene 0 aminoácidos de longitud, L_3 comprende la secuencia GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 105) y L_4 tiene 0 aminoácidos de longitud.

Ítem 31: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 24–30, en donde:

(a) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142;

(b) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L2} comprende una CDR–

L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142;

(c) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO146: y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147;

(d) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147;

(e) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; V_{L2} comprende una CDR–

L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144;

(f) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:178 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144;

(g) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147;

(h) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L2} comprende una CDR–

L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144;

(i) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; o

(j) V_{H1} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; V_{L1} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; V_{H2} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; V_{L2} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147; V_{H3} comprende una CDR–H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 132, una CDR–H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y una CDR–H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; y V_{L3} comprende una CDR–L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, una CDR–L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:179 y una CDR–L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144.

Ítem 32: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 1, 3–16, 18–24 y 26–31, en donde la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}, en donde la primera región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; y en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de

cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}, en donde la segunda región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368 y 407 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A e Y407V.

Ítem 33: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 1, 3–16, 18–24 y 26–31, en donde la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}, en donde la primera región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368 y 407 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A e Y407V; y en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}, en donde la segunda región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W.

Ítem 34: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 1, 3–16, 18–24 y 26–33, en donde la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3} y en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde la primera y la segunda región Fc comprenden sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 428 y 434 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son M428L y N434S.

Ítem 35: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 2, 4–15, 17, 19–23, 25 y 27–31, en donde el dominio C_{H3} de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; y en donde el dominio C_{H3} de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368 y 407 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A e Y407V.

Ítem 36: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 2, 4–15, 17, 19–23, 25 y 27–31, en donde el dominio C_{H3} de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368 y 407 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A e Y407V; y en donde el dominio C_{H3} de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W.

Ítem 37: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 2, 4–15, 17, 19–23, 25, 27–31, 35 y 36, en donde los dominios C_{H3} de la segunda y la tercera cadena polipeptídica comprenden sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 428 y 434 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son M428L y N434S.

Ítem 38: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 1, 3–16, 18–24, y 26–34, en donde la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios

constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde la primera y la segunda región Fc son regiones Fc de IgG1 o IgG4 humana; y en donde sólo una de la primera y la segunda región Fc comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 435 y 436 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son H435R e Y436F.

Ítem 39: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 2, 4–15, 17, 19–23, 25, 27–31 y 35–37, en donde los dominios C_{H3} de la segunda y la tercera cadena polipeptídica son dominios C_{H3} de IgG1 o IgG4 humana y en donde sólo uno de los dominios C_{H3} comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 435 y 436 de IgG1 o IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son H435R e Y436F.

Ítem 40: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 1, 3–16, 18–24, 26–34, y 28, en donde la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde la primera y la segunda región Fc son regiones Fc de IgG4 humana; y en donde la primera y la segunda región Fc comprenden cada una sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 228 y 409 de IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S228P y R409K.

Ítem 41: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 2, 4–15, 17, 19–23, 25, 27–31, 35–37 y 39, en donde los dominios C_{H3} de la segunda y la tercera cadena polipeptídica son dominios C_{H3} de IgG4 humana y en donde los dominios C_{H3} comprenden cada uno sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las

posiciones 228 y 409 de IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S228P y R409K.

Ítem 42: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 1, 3–16, 18–24, 26–34, 38 y 40, en donde la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc unida con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc unida con C_{H1}, donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina C_{H2} y C_{H3}; en donde la primera y la segunda región Fc son regiones Fc de IgG4 humana; y en donde la primera y la segunda región Fc comprenden cada una sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 234 y 235 de IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son F234A y L235A.

Ítem 43: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 2, 4–15, 17, 19–23, 25, 27–31, 35–37, 39 y 41, en donde los dominios C_{H3} de la segunda y la tercera cadena polipeptídica son dominios C_{H3} de IgG4 humana y en donde los dominios C_{H3} comprenden cada uno sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 234 y 235 de IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son F234A y L235A.

Ítem 44: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 1, 3–16, 18–24, 26–34, 38 y 40, en donde la segunda cadena polipeptídica también comprende una primera región Fc ligada con C_{H1}, donde la primera región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina CH2 y CH3; en donde la tercera cadena polipeptídica también comprende una segunda región Fc ligada con C_{H1}, en donde la segunda región Fc comprende una región bisagra de inmunoglobulina y dominios constantes de cadena pesada de inmunoglobulina CH2 y CH3; en donde la primera y la segunda región Fc son regiones Fc de IgG1 humana; y en donde la primera y

la segunda región Fc comprenden cada una sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 234 y 235 de IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son L234A y L235A.

Ítem 45: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 2, 4–15, 17, 19–23, 25, 27–31, 35 y 37, 39 y 41, en donde los dominios CH3 de la segunda y tercera cadena polipeptídica son dominios C_{H3} de IgG1 humana y en donde los dominios CH3 comprenden cada una sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 234 y 235 de IgG4 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son L234A y L235A.

Ítem 46: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 2, 4–15, 17, 19–23, 25, 27–31, 35–37, 39, 41, 43 y 45, en donde VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3 humana, en donde VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 humana y en donde VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral humano.

Ítem 47: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 2, 4–15, 17, 19–23, 25, 27–31, 35–37, 39, 41, 43 y 45, en donde VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 humana, en donde VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3 humana y en donde VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral humano.

Ítem 48: La proteína de unión del ítem 46 o el ítem 47, en donde el tercer sitio de unión a antígeno se une específicamente con una proteína diana tumoral humano seleccionada del grupo que consiste en CD19, CD20, CD38, Her2 y LAMP1.

Ítem 49: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 46–48, en donde el sitio de unión con antígeno que se une específicamente a CD3 comprende:

(a) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 152 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153; o

(b) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155.

Ítem 50: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 46–49, en donde el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 comprende:

(a) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 160 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 161; o

(b) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 162 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 163.

Ítem 51: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 46–50, en donde el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral comprende:

(a) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 156 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 157;

(b) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 159;

(c) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 164 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 165;

(d) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 150 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 151; o

(e) un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 166 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 167.

Ítem 52: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 2, 17, 35–37, 39, 41, 43 y 45, en donde:

(a) VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano, VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana y VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana;

(b) VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano, VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana y VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana;

(c) VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana, VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano y VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana;

(d) VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana, VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana y VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano;

(e) VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana, VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno

que se une específicamente a IL4 humana y VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano; o

(f) VH1 y VL1 forman un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana, VH2 y VL2 forman un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano y VH3 y VL3 forman un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana.

Ítem 53: La proteína de unión del ítem 52, en donde el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a TNFa humano comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 168 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 169.

Ítem 54: La proteína de unión del ítem 52 o el ítem 53, en donde el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL4 humana comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 170 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 171.

Ítem 55: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 52–54, en donde el sitio de unión a antígeno que se une específicamente a IL13 humana comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 172 y un dominio variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 173.

Ítem 56: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 1–55, en donde:

(a) el dominio CL de la primera cadena polipeptídica es un dominio CL kappa humano y el dominio CL de la cuarta cadena polipeptídica es un dominio CL lambda humano; o

(b) el dominio CL de la primera cadena polipeptídica es un dominio CL lambda humano y el dominio CL de la cuarta cadena polipeptídica es un dominio CL kappa humano.

Ítem 57: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 2, 17, 25, 35–37, 39, 41 y 43–55, en donde la primera cadena polipeptídica comprende un dominio CL lambda; en donde el dominio C_{H3} de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; en donde el dominio C_{H3} de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368, 407, 435 y 436 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A, Y407V, H435R e Y436F; y en donde la cuarta cadena polipeptídica comprende un dominio CL kappa.

Ítem 58: Una proteína de unión que comprende una primera cadena polipeptídica, una segunda cadena polipeptídica, una tercera cadena polipeptídica y una cuarta cadena polipeptídica en donde:

(a) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2;

(b) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al

menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2;

(c) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14;

(d) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14;

(e) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18;

(f) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18;

(g) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

NO: 21; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22;

(h) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22;

(i) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61;

(j) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 o una secuencia de aminoácidos que es

al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61;

(k) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71;

(l) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74;

(m) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 81; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74;

(n) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 88 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 88; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 87 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 87; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86;

(o) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 94 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 94; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 93 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 93; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

NO: 85; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86;

(p) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74;

(q) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86;

(r) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 o una secuencia de aminoácidos que es

al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74;

(s) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86;

(t) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115; o

(u) la primera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de

SEQ ID NO: 10 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10; la segunda cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; la tercera cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114; y la cuarta cadena polipeptídica comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115 o una secuencia de aminoácidos que es al menos 95% idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115.

Ítem 59: Una molécula de ácido nucleico aislada que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la proteína de unión de cualquiera de los ítems 1–58.

Ítem 60: Un vector de expresión que comprende la molécula de ácido nucleico del ítem 59.

Ítem 61: Una célula huésped aislada que comprende la molécula de ácido nucleico del ítem 59.

Ítem 62: Una célula huésped aislada que comprende el vector de expresión del ítem 60.

Ítem 63: La célula huésped aislada del ítem 61 o el ítem 62, en donde la célula huésped es una célula de mamífero o una célula de insecto.

Ítem 64: Una composición farmacéutica que comprende la proteína de unión de cualquiera de los ítems 1–58 y un portador farmacéuticamente aceptable.

Ítem 65: Un método de prevención y/o tratamiento de cáncer en un paciente que comprende la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos una proteína de unión de cualquiera de los ítems 1–23 y 32–58 o la composición farmacéutica del ítem 64.

Ítem 66: El método del ítem 65, en donde la proteína de unión comprende un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína de superficie de células T y otro sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral.

Ítem 67: El método del ítem 66, en donde la proteína de unión comprende un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3, un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 y un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral seleccionada del grupo que consiste en CD19, CD20, CD38, Her2 y LAMP1.

Ítem 68: El método de cualquiera de los ítems 65–67, en donde la al menos una proteína de unión se coadministra con un agente quimioterapéutico.

Ítem 69: A método de prevención y/o tratamiento de una enfermedad o trastorno inflamatorio en un paciente que comprende la administración al paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de al menos una proteína de unión de cualquiera de los ítems 15, 24–45 y 52–58 o la composición farmacéutica del ítem 64.

Ítem 70: El método del ítem 69, en donde la proteína de unión comprende tres sitios de unión a antígeno que se unen cada uno específicamente con una proteína diana de citoquina seleccionada del grupo que consiste en IL–4, IL–13 y TNFa.

Ítem 71: El método del ítem 69 o el ítem 70, en donde la al menos una proteína de unión se coadministra con un agente antiinflamatorio.

Ítem 72: El método de cualquiera de los ítems 65–71, en donde es paciente es un humano.

Ítem 73: El método del ítem 65 o el ítem 69, en donde la proteína de unión es capaz de inhibir la función de una o varias proteínas diana seleccionadas del grupo que consiste en A2AR, APRIL, ATPDasa, BAFF, BAFFR, BCMA, BlyS, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, B7H5, B7H6, B7H7, B7RP1, B7–4, C3, C5, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CCL15, CCL17, CCL19, CCL20, CCL21, CCL24, CCL25, CCL26, CCR3, CCR4, CD3, CD19, CD20, CD23, CD24, CD27, CD28, CD38, CD39, CD40, CD70, CD80, CD86,

CD122, CD137, CD137L, CD152, CD154, CD160, CD272, CD273, CD274, CD275, CD276, CD278, CD279, CDH1, quitinasa, CLEC9, CLEC91, CRTH2, CSF–1, CSF–2, CSF–3, CX3CL1, CXCL12, CXCL13, CXCR3, DNGR–1, ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa 1, EGFR, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP, Gi24, GITR, GITRL, GM–CSF, Her2, HHLA2, HMGB1, HVEM, ICOSLG, IDO, IFNα, IgE, IGF1R, IL2Rbeta, IL1, IL1A, IL1B, IL1F10, IL2, IL4, IL4Ra, IL5, IL5R, IL6, IL7, IL7Ra, IL8, IL9, IL9R, IL10, rhIL10, IL12, IL13, IL13Ra1, IL13Ra2, IL15, IL17, IL17Rb, IL18, IL22, IL23, IL25, IL27, IL33, IL35, ITGB4, ITK, KIR, LAG3, LAMP1, leptina, LPFS2, MHC clase II, NCR3LG1, NKG2D, NTPDasa–1, OX40, OX40L, PD–1H, receptor plaquetario, S152, SISP1, SLC, SPG64, ST2, Syk quinasa, TACI, TDO, T14, TIGIT, TIM3, TLR, TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, TNFa, TNFRSF7, Tp55, TREM1, TSLP, TSLPR, TWEAK, VEGF, VISTA, Vstm3, WUCAM y XCR1.

Ítem 74: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 1–23 y 32–58 o la composición del ítem 64 para usar en la prevención y/o el tratamiento de cáncer en un paciente.

Ítem 75: La proteína de unión para usar o la composición para usar del ítem 74, en donde la proteína de unión comprende un sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína de superficie de células T y otro sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral.

Ítem 76: La proteína de unión para usar o la composición para usar del ítem 75, en donde la proteína de unión comprende un primer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD3, un segundo sitio de unión a antígeno que se une específicamente a CD28 y un tercer sitio de unión a antígeno que se une específicamente a una proteína diana tumoral seleccionada del grupo que consiste en CD19, CD20, CD38, Her2 y LAMP1.

Ítem 77: La proteína de unión para usar o la composición para usar de cualquiera de los ítems 74–76, en donde la proteína de unión se coadministra con un agente quimioterapéutico.

Ítem 78: La proteína de unión de cualquiera de los ítems 1–15, 24–45 y 52–58 o la composición farmacéutica del ítem 64 para usar la prevención y/o el tratamiento de una enfermedad o trastorno inflamatorio en un paciente.

Ítem 79: La proteína de unión para usar o la composición para usar del ítem 78, en donde la proteína de unión comprende tres sitios de unión a antígeno que se unen cada uno específicamente con una proteína diana de citoquina seleccionada del grupo que consiste en IL–4, IL–13 y TNFa.

Ítem 80: La proteína de unión para usar o la composición para usar del ítem 78 o el ítem 79, en donde la proteína de unión se coadministra con un agente antiinflamatorio.

Ítem 81: La proteína de unión para usar o la composición para usar de cualquiera de los ítems 74–80, en donde es paciente es un humano.

Ítem 82: La proteína de unión para usar o la composición para usar del ítem 74 o el ítem 78, en donde la proteína de unión es capaz de inhibir la función de una o varias proteínas diana seleccionadas del grupo que consiste en A2AR, APRIL, ATPDasa, BAFF, BAFFR, BCMA, BlyS, BTK, BTLA, B7DC, B7H1, B7H4, B7H5, B7H6, B7H7, B7RP1, B7–4, C3, C5, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CCL15, CCL17, CCL19, CCL20, CCL21, CCL24, CCL25, CCL26, CCR3, CCR4, CD3, CD19, CD20, CD23, CD24, CD27, CD28, CD38, CD39, CD40, CD70, CD80, CD86, CD122, CD137, CD137L, CD152, CD154, CD160, CD272, CD273, CD274, CD275, CD276, CD278, CD279, CDH1, quitinasa, CLEC9, CLEC91, CRTH2, CSF–1, CSF–2, CSF–3, CX3CL1, CXCL12, CXCL13, CXCR3, DNGR–1, ectonucleósido trifosfato difosfohidrolasa 1, EGFR, ENTPD1, FCER1A, FCER1, FLAP,FOLH1 Gi24, GITR, GITRL, GM–CSF, Her2, HHLA2, HMGB1, HVEM, ICOSLG, IDO, IFNα, IgE, IGF1R, IL2Rbeta, IL1, IL1A, IL1B, IL1F10, IL2, IL4, IL4Ra, IL5, IL5R, IL6, IL7, IL7Ra, IL8, IL9, IL9R, IL10, rhIL10, IL12, IL13, IL13Ra1, IL13Ra2, IL15, IL17, IL17Rb, IL18, IL22, IL23, IL25, IL27, IL33, IL35, ITGB4, ITK, KIR, LAG3, LAMP1, leptina, LPFS2, MHC clase II, NCR3LG1, NKG2D, NTPDasa–1, OX40, OX40L, PD–1H, receptor plaquetario, PROM1, S152, SISP1, SLC, SPG64, ST2, STEAP2, Syk quinasa, TACI, TDO, T14, TIGIT,

TIM3, TLR, TLR2, TLR4, TLR5, TLR9, TMEF1, TNFa, TNFRSF7, Tp55, TREM1, TSLP, TSLPR, TWEAK, VEGF, VISTA, Vstm3, WUCAM y XCR1.

Ítem 83: Un método de purificación de una proteína de unión producida por una célula huésped, que comprende:

(a) producir la proteína de unión de uno cualquiera de los ítems 2, 17, 25, 35-37, 41, 43, 45, y 46-55 en una célula huésped, en donde sólo uno del dominio C_{H3} de la segunda cadena polipeptídica y el dominio C_{H3} de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 435 y 436 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son H435R e Y436F;

(b) poner en contacto la proteína de unión producida en (a) con la proteína A; y

(c) eluir la proteína de unión de la proteína A en condiciones apropiadas para aislar la proteína de unión de las proteínas de unión que comprenden ya sea 0 ó 2 dominios C_{H3} que comprenden las sustituciones de aminoácidos son H435R e Y436F, con lo que se purifica la proteína de unión.

Ítem 84: El método del ítem 83, en donde el dominio C_L de la primera cadena polipeptídica es un dominio C_L kappa humano, y el dominio C_L de la cuarta cadena polipeptídica es un dominio C_L lambda humano; o el dominio C_L de la primera cadena polipeptídica es un dominio C_L lambda humano, y el dominio C_L de la cuarta cadena polipeptídica es un dominio C_L kappa humano, y el método comprende además:

(d) poner en contacto la proteína de unión eluida en (c) con un medio de afinidad de cadena ligera kappa; y

(e) eluir la proteína de unión del medio de afinidad de cadena ligera kappa

en condiciones apropiadas para aislar la proteína de unión de las proteínas de unión que comprende sólo dominios C_L lambda.

Ítem 85: El método del ítem 84, que también comprende, después de (e):

(f) poner en contacto la proteína de unión eluida en (e) con un medio de afinidad de cadena ligera lambda; y

(g) eluir la proteína de unión del medio de afinidad de cadena ligera lambda en condiciones apropiadas para aislar la proteína de unión de las proteínas de unión que comprende sólo dominios CL kappa.

Ítem 86: El método del ítem 83, en donde el dominio C_L de la primera cadena polipeptídica es un dominio C_L kappa humano, y el dominio C_L de la cuarta cadena polipeptídica es un dominio C_L lambda humano; o el dominio C_L de la primera cadena polipeptídica es un dominio C_L lambda humano, y el dominio C_L de la cuarta cadena polipeptídica es un dominio C_L kappa humano, y el método comprende además:

(d) poner en contacto la proteína de unión eluida en (c) con un medio de afinidad de cadena ligera lambda; y

(e) eluir la proteína de unión del medio de afinidad de cadena ligera lambda en condiciones adecuadas para aislar la proteína de unión de las proteínas de unión que comprenden solo los dominios C_L kappa.

Ítem 87: El método del ítem 86, que comprende además, después de (e):

(f) poner en contacto la proteína de unión eluida en (e) con un medio de afinidad de cadena ligera kappa; y

(g) eluir la proteína de unión del medio de afinidad de cadena ligera lambda en condiciones adecuadas para aislar la proteína de unión de las proteínas de unión que comprenden solo los dominios C_L lambda.

Ítem 88: El método de uno cualquiera de los ítems 83-87, en donde la primera cadena polipeptídica comprende un dominio CL lambda; en donde el dominio C_{H3} de la segunda cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones

correspondientes a las posiciones 354 y 366 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son S354C y T366W; en donde el dominio C_{H3} de la tercera cadena polipeptídica comprende sustituciones de aminoácidos en las posiciones correspondientes a las posiciones 349, 366, 368, 407, 435 y 436 de IgG1 humana de acuerdo con el índice EU, en donde las sustituciones de aminoácidos son Y349C, T366S, L368A, Y407V, H435R e Y436F; y en donde la cuarta cadena polipeptídica comprende un dominio CL kappa.

Ítem 89: El método de cualquiera de los ítems 83–88, en donde la proteína de unión se detecta en uno o más de (c) y (e) usando cromatografía por interacción hidrofóbica (HIC).

Ítem 90: El método de cualquiera de los ítems 83–89, en donde los dominios C_{H3} de las segunda y la tercera cadenas polipeptídicas son dominios C_{H3} de IgG1 o IgG4.

EJEMPLOS

Los Ejemplos que siguen son ilustrativos de realizaciones específicas de la descripción, y sus diversos usos. Se exponen únicamente con fines explicativos y no se deben interpretar como limitantes del alcance de la invención de ninguna manera.

Ejemplo 1: Materiales y métodos

Se utilizaron los siguientes materiales y métodos para los experimentos descritos en los Ejemplos 2–5.

Diseño de anticuerpos triespecíficos

Una ilustración esquemática del diseño general del anticuerpo triespecífico se ilustra en las **FIGS. 1A–1C**. Se diseñaron anticuerpos triespecíficos individuales basados en 5 parámetros: 1) Selección de sitios de unión del anticuerpo; 2) Consideración de la posición de cada sitio de unión; 3) elección de los ligadores para la rama de unión biespecífica (es decir, cadena pesada/cadena ligera B en la **FIG. 1C**); 4). La integración de la mutación “botón” y “ojal” en las mitades respectivas del anticuerpo; 5) Elección del isotipo Fc (IgG1 o IgG4). Después del ensamblaje de las secuencias de aminoácidos para cada

molécula triespecífica, se sintetizaron cuatro genes para cada Ab triespecífico usando codones humanos preferidos (CambrY Applied Biosciences, Cambridge, MA, Estados Unidos) y se clonaron en un vector de expresión eucariota.

Producción y purificación de anticuerpos triespecíficos

Se produjeron anticuerpos triespecíficos mediante la transfección transitoria de 4 plásmidos de expresión en células Expi293 utilizando el kit de transfección ExpiFectamine™ 293 (Thermo Fisher Scientific) de acuerdo con el protocolo del fabricante. En pocas palabras, el 25% (p/p) de cada plásmido se diluyó en Opti–MEM, se mezcló con reactivo ExpiFectamina prediluido durante 20–30 minutos a temperatura ambiente (RT) y se añadió a células Expi293 (2,5 x10^6 células/ml) . A menudo se utilizó una optimización de la transfección para determinar la mejor relación de plásmidos con el fin de producir el anticuerpo triespecífico con buen rendimiento y pureza.

El sobrenadante de células transfectadas se recolectó 4–5 días después de la transfección, y se filtró a través de una unidad de filtro de 0,45 µm (Nalgene). El anticuerpo triespecífico en el sobrenadante se purificó usando un procedimiento de 3 etapas. En primer lugar, se usó purificación por afinidad de la proteína A, y se eluyó el Ab unido usando "Buffer de elución IgG" (Thermo Fisher Scientific). En segundo lugar, el producto se dializó frente a PBS (pH 7,4) durante la noche con 2 cambios de tampón PBS. Todo precipitado se eliminó por filtración a través de una unidad de filtro de 0,45 µm (Nalgene) antes de la siguiente etapa. En tercer lugar, se utilizó la purificación por cromatografía de exclusión de tamaño (SEC) (Hiload 16/600 Superdex 200pg, o Hiload 26/600 Superdex 200pg, GE Healthcare) para eliminar agregados y diferentes especies en la preparación. Las fracciones se analizaron en SDS–PAGE reducida y no reducida para identificar las fracciones que contenían el anticuerpo monomérico triespecífico antes de combinarlas. El anticuerpo purificado se puede alicuotar y almacenarse a –80ºC a largo plazo

Ensayos ELISA

Las propiedades de unión de los anticuerpos purificados se analizaron utilizando métodos ELISA o SPR. Para ELISA, se usaron antígenos correspondientes para cada sitio de unión en el anticuerpo triespecífico para recubrir una placa Immuno de 96 pocillos (Nunc 439454, Thermo Fisher Scientific) durante la noche a 4ºC usando 2 µg/ml de cada antígeno en PBS (pH 7,4) . La placa recubierta se bloqueó usando leche descremada 5% + BSA 2% en PBS durante una hora a RT, seguido de lavado con PBS + Tween 20 0,25% tres veces (Aqua Max 400, Molecular Devices). Se prepararon diluciones seriadas de anticuerpos (Abs triespecífico y control) y se añadieron a las placas de ELISA (100 µl/pocillo por duplicado), se incubaron a TA durante una hora, seguido de lavado 5 veces con PBS + Tween 20 0,25%.

Después de lavar, se añadió el Fab anti–humano secundario conjugado con HRP (1: 5000, Nº de catálogo 109–035–097, Jackson ImmunoResearch Inc) a cada pocillo y se incubó a TA durante 30 minutos. Después de lavar 5 veces con PBS + Tween 20 al 0,25%, se añadieron a cada pocillo 100 µl de sustrato de peroxidasa de TMB Microwell (KPL, Gaithersburg, MD, Estados Unidos). La reacción se terminó mediante la adición de 50 µl de H_2SO_4 1 M y se midió la OD_{450} usando SpectraMax M5 (Molecular Devices) y se analizó utilizando el software SoftMax Pro6.3 (Molecular Devices). Los datos finales se transfirieron al software GraphPad Prism (GraphPad Software, CA, Estados Unidos) y se graficaron como se muestra. La EC_{50} se calculó utilizando el mismo software.

Ensayos SPR

Se seleccionaron dos pares de cadenas pesadas y ligeras para un análisis cinético completo. La caracterización cinética de los anticuerpos purificados se realizó utilizando tecnología de resonancia de plasmón superficial (SPR) en un BIACORE 3000 (GE Healthcare). Se utilizó un ensayo de captura mediante una captura de anticuerpo específica de marca y orientación de los anticuerpos investigados. Para la captura de los constructos de proteínas que contienen Fc, se utilizó el kit de captura de anticuerpos humanos (GE Healthcare), para la captura de los constructos de proteína que contienen la marca His se

utilizó el kit de captura de His (GE Healthcare). El anticuerpo de captura se inmovilizó mediante grupos de amina primaria (11000 RU) en un chip CM5 de grado de investigación (GE Life Sciences) usando procedimientos estándares. El anticuerpo analizado se capturó a un caudal de flujo de 10 µl/min con un valor de RU ajustado que puede producir una señal de unión máxima de analito de típicamente 30 RU.

Para un ensayo de ejemplo, la IL13 humana recombinante (catálogo # IL012) y la IL4 humana (catálogo # IL004) se adquirieron en Millipore, el TNFα humano recombinante (catálogo # H8916) se adquirió de Sigma Aldrich. La cinética de unión se midió frente a IL4 e IL13 humana recombinante en un rango de concentración entre 0,1 a 3 nM para IL4 y 0,8 a 25 nM para IL13. Para el TNFα humano, se utilizó un rango de concentración de 3 a 100 nM. Como tampón de ensayo se usó HBS EP (HEPES 10 mM, pH 7,4, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, y Tensioactivo P20 0,005%) a un caudal de flujo de 30 µl/min. Las superficies del chip se regeneraron con la solución de regeneración del respectivo kit de captura. Los parámetros cinéticos se analizaron y calcularon en el paquete del programa de BIAevaluation v4.1 usando una celda de flujo sin anticuerpo capturado como referencia y el modelo de unión de Langmuir 1: 1 con transferencia de masa. Para estudiar la unión simultánea de antígenos, los anticuerpos triespecíficos se capturaron mediante una superficie de captura de anticuerpo anti–humano. Los antígenos se usaron en concentraciones únicas con IL4 a 3 nM, IL13 a 25 nM y TNFα a 100 nM. Para mostrar la unión simultánea de los tres antígenos, se inyectó una mezcla de IL4, IL13 y TNFα. En ciclos de análisis separados, se inyectó IL13 solo, seguido por IL4 o TNFα, y seguido por co–inyección de IL4/TNFα o co–inyección de TNFα/IL4. Se comparó la respuesta final medida en cada ciclo para mostrar la similitud de unión consecutiva de dos o tres antígenos y la unión simultánea de una mezcla de los tres antígenos.

Activación de células T In vitro *y ensayos de proliferación*

Las PBMC humanas se purificaron a partir de la capa leucocitaria adquirida de Blood Research Component (Brookline, MA, Estados Unidos) usando el método Ficoll–

Paque Plus. Brevemente, la capa leucocitaria fresca se diluyó primero a una relación de 1: 3 en PBS (pH 7,4), y se mezcló con la solución Ficoll–Paque Plus (Ficoll) completamente antes de usar mediante la inversión del frasco varias veces. Se añadió 15 mL de medio de gradiente de densidad a cada tubo Leucosep® y se centrifugaron durante 30s a 1000xg, RT. El medio se ubica ahora por debajo de la barrera porosa. Después se vertieron cuidadosamente 30–40 ml de capa leucocitaria diluida en cada tubo de Leucosep y se centrifugó a 800 xg durante 15 minutos a temperatura ambiente, con el freno apagado y Max accel a 5. Se eliminó la capa de plasma y el resto del sobrenadante, que contiene las PBMC enriquecidos, se transfirió a un nuevo tubo (el tubo de Leucosep no se mantuvo en la posición invertida durante más de 2 segundos). Las PBMC enriquecidos se lavaron con 45 ml de PBS y se centrifugaron a 250 x g durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se repitió el lavado y se combinaron múltiples tubos en un tubo. Las células se resuspendieron en 20 ml de PBS y se contaron usando un Bio – Rad TC20.

Para montar el ensayo de activación de células T in vitro, se resuspendieron las PBMC humanos purificados en medio de cultivo (RPMI1640 con FBS 10% y suplementado con glutamina/estreptomicina) (Thermo Fisher Scientific) (10^6 células/ml). Se añadieron concentraciones indicadas de diferentes anticuerpos triespecíficos y de control a cada pocillo, o se usaron para recubrir la placa antes de usar como se describe en Stebbings, R. *et al.* (2007) *J. Immunol.* 179:3325–3331, y se incubaron durante 16 – 24 horas en un incubador de cultivo de tejidos. Las células se centrifugaron y se recolectó sobrenadante para medir la liberación de citoquinas o se descartó. Las células se tiñeron con anticuerpos marcados fluorescentes para marcadores de células T (CD3, CD4, CD8, etc.) y marcadores de activación (CD69, CD62L, etc.) y se analizaron mediante la corrida d de las muestras en un citómetro de flujo Fortessa (Beckton Dickinson, San José, CA), seguido por análisis usando el software Flowjo (FlowJo v10) y se graficó como se muestra.

Para montar el ensayo de proliferación de células T in vitro, se resuspendieron las PBMC humanos purificadas en medio de cultivo (RPMI1640 con FBS 10% y suplementado

con glutamina/estreptomicina) (Thermo Fisher Scientific) (10^6 células/ml). Se añadieron concentraciones indicadas de diferentes anticuerpos triespecíficos y de control a cada pocillo y se incubaron durante 1 – 7 días en un incubador de cultivo de tejidos. Las células se centrifugaron y se recolectó sobrenadante para medir la liberación de citoquinas o se descartó. Las células se tiñeron con anticuerpos marcados fluorescentes para marcadores de células T (CD3, CD4, CD8, etc.) y marcadores de activación (CD69, CD62L, etc.) y se analizaron mediante la corrida de las muestras en un citómetro de flujo Fortessa (Beckton Dickinson, San Jose, CA), seguido por análisis usando el software Flowjo (FlowJo v10) y se graficó como se muestra.

Ensayo de destrucción celular in vitro

Las PBMC humanas purificadas se usaron para ensayos de destrucción in vitro contra diversas células de cáncer utilizando diferentes anticuerpos triespecíficos. Brevemente, el ensayo de destrucción se montó en una placa de fondo en V de 96 pocillos. Para cada placa, se sembraron 40 ml de PBMC de cada donante a 2 x 10^6 células/ml y 30 ml de células blanco marcadas con PKH26 (Sigma # MINI26) a 2,5 x 10^5 células/ml (4 µL de colorante para teñir hasta 1x10^7 células). Primero se añadieron 20 µL/pocillo de proteínas de prueba en diversas concentraciones o PMA en cada pocillo, seguido de la adición de 80 µL/pocillo de células blanco marcadas en cada pocillo (2X10^4 células/pocillo). Luego se añadieron 100 µl de PBMC a cada pocillo, alcanzando E: T = 10: 1 pocillo (2x10^5 células/pocillo), y se incubaron durante 24 horas a 37ºC de incubador de CO2 5%. Las células se centrifugaron y se recolectó el sobrenadante para medir la liberación de citoquinas o se descartó. Las células se tiñeron con tampón de tinción de células muertas fijable Vivid LIVE/DEAD™ (Life Technology # L34955) (el tampón de tinción se preparó mediante la adición de 60 µl de reactivo Vivid en 60 ml de PBS). Las células se resuspendieron en 100 µL de tampón de tinción por incubación durante 15 minutos a TA en la oscuridad. Después de lavar las células con 1xPBS, las células se resuspendieron en 200 µl de PBS con paraformaldehído 0,5%, y las células de cáncer PKH26 + Vivid + se

recolectaron mediante citómetro de flujo Fortessa (Beckton Dickinson, San José, CA), seguido por el análisis usando el software Flowjo. El porcentaje de destrucción se calcula como "destrucción específica espontánea/células totales y se grafica como se muestra.

Ensayo de liberación de citoquinas

Para medir las concentraciones de citoquinas inflamatorias en los ensayos de activación in vitro, ensayos de destrucción in vitro, ensayos de activación in vivo en ratones NSG humanizados con células de cordón umbilical CD34 + y estudio de toxicidad, se recolectó el sobrenadante del cultivo celular y se diluyeron muestras de suero de acuerdo con el protocolo del fabricante usando el kit 13 plex de alta sensibilidad de células T humanas Milliplex (EMD Millipore). Posteriormente se analizaron por el sistema EMD Millipore MAGPIX® y software MILLIPLEX® Analyst 5.1.

Modelos de ratón y estudios de eficacia in vivo

Se usaron ratones NSG (hu–CD34) injertados con células madre hematopoyéticas CD34 + humanas como un modelo de ratón in vivo. Estos ratones desarrollan células inmunitarias humanas de múltiples linajes y son una plataforma validada para estudios de eficacia de inmunooncología (ver, por ejemplo, Shultz, L.D. *et al.* (2014) *Cold Spring Harb. Protoc.* 2014:694–708). Los ratones Hu–CD34 + NSG se producen mediante la inyección de células madre hematopoyéticas CD34+, lo que muestra el injerto efectivo de múltiples linajes de poblaciones de células inmunitarias humanas que incluyen células T, células B y algunas otras poblaciones (McDermott, S.P. *et al.* (2010) *Blood* 116:193–200). La hematopoyesis de linaje múltiple ocurre dentro de 12 semanas. El injerto es estable durante más de un año sin enfermedad de injerto contra huésped.

Para el estudio de eficacia que utilizó ratones NS–CD34 NSG, los ratones se adquirieron en The Jackson Laboratory (Maine, Estados Unidos), y las poblaciones de células humanas se validaron antes del uso. En general, se usaron $5x10^6$ células tumorales mezcladas en Matrigel (BD Biosciences) (50% v/v) para inocular el tumor en cada ratón. Una vez que el tamaño del tumor alcanzó el intervalo de 100–150 mm^3, los ratones se

seleccionaron y se aleatorizaron a cada grupo para estudio. Los anticuerpos se administraron por vía intravenosa a dosis dadas 3 veces por semana. Se controló el peso corporal 1–3 veces por semana. El tamaño del tumor se midió mediante mediciones del tumor con calibre 1–3 veces/semana. Todos los ratones se sacrificaron cuando el tamaño del tumor alcanzó 1.500 mm^3, o 24 horas después de la última dosis. Se recolectaron muestras de sangre terminales (0,3 ml) en tubos separadores de suero, se mezclaron mediante la inversión suave cinco veces y se colocaron en una gradilla de tubos. Los tumores terminales también se recogieron y pesaron antes de colocarse en fijador para el análisis de inmunohistoquímica.

Se usaron ratones NSG humanos humanizados con PBMC (hu–PBMC) NSG como otro modelo de ratón in vivo. Estos ratones se producen mediante la inyección de PBMC humanas purificadas de donantes sanos, que tienen la velocidad de injerto más rápida usando células mononucleares de sangre periférica adultas y permiten estudios a corto plazo que requieren una función efectora fuerte de células T de memoria T y células NK y son adecuados para estudios de eficacia a para corto plazo (3–4 semanas) debido a la enfermedad de injerto contra huésped.

Para el estudio de eficacia que usa ratones NSG hu–PBMC, se adquirieron ratones NSG de 8–10 semanas de edad (Nº Cat.: 005557, NOD.Cg–Prkdcscid Il2rgtm1Wjl/SzJ) en The Jackson Laboratory (Maine, Estados Unidos) Cada ratón fue inoculado con $5x10^6$ células tumorales mezcladas en Matrigel (BD Biosciences) (50% v/v). Una vez que el tamaño del tumor alcanzó el rango de 50–100 mm^3, se reconstituyeron $10x10^6$ PBMC humanas de un donante sano en cada ratón. La reconstitución de células humanas fue validada al día siguiente. Una vez que el tamaño del tumor alcanzó el rango de 100–150 mm^3, los ratones se seleccionaron y aleatorizaron a cada grupo para el estudio. Los anticuerpos se administraron por vía intravenosa a las dosis dadas 3 veces por semana. Se controló el peso corporal 1–3 veces por semana. El tamaño del tumor se midió mediante mediciones del tumor con calibre 1–3 veces/semana. Todos los ratones se sacrificaron

cuando el tamaño del tumor alcanzó 1.500 mm^3 o 24 horas después de la última dosis. Se recolectaron muestras de sangre terminales (0,3 ml) en tubos separadores de suero, se mezclaron mediante la inversión suave cinco veces y se colocaron en una gradilla de tubos. Los tumores terminales también se recogieron y pesaron antes de colocarse en fijador para el análisis de inmunohistoquímica.

Estudio de tolerabilidad y farmacocinética NHP

Todos los estudios de NHP se llevaron a cabo en Covance (Princeton, New Jersey, Estados Unidos) de acuerdo con el protocolo Covance ICUCA. En todos los estudios se utilizaron monos Cynomolgus machos naïve para proteínas y fármaco o naïve para proteínas. Sobre la base del diseño del estudio, los monos se seleccionaron y agruparon para cada anticuerpo triespecífico. Se administró anticuerpo por infusión intravenosa durante 1 hora a través de la vena safena. Se administraron dosis crecientes en días consecutivos para dosis bajas (<10 µg/kg), pero con un intervalo de 1–2 días para dosis más altas (> 10 µg/kg) con fines de observación. Se recolectaron muestras de sangre a 0 horas (solo Día 1), 0,5 horas (infusión intermedia), 1 y 6 horas desde el comienzo de la infusión para todos los animales después de cada dosis, según se especifica. Se recolectaron muestras de sangre adicionales no programadas a criterio del director, patólogo y/o veterinario clínico del estudio. Todos los animales se devolvieron a la colonia el día 60. Se prepararon PBMC y suero de las muestras de sangre usando métodos estándar y se conservaron para análisis futuros.

Ensayo indicador de luciferasa

Las células Jurkat GloResponse ™ IL2–luc2P, Descongelar y usar (Promega parte # CS187002) y GloResponse ™ NFAT–Luc2 Jurkat (Promega Cat # CS176401) se adquirieron en Promega (WI, Estados Unidos) y se prepararon para usar de acuerdo con el protocolo del fabricante.

Brevemente, las células se descongelaron durante 2 min en un baño de agua a 37ºC y se transfirieron suavemente a un tubo de centrifugación cónico de 15 ml que

contiene 10 ml de medio R10 precalentado. El tubo se centrifugó a 300 g durante 5 minutos a TA. Se retiró el sobrenadante y las células se resuspendieron en 20 ml de medio R10 precalentado y se transfirieron a un matraz de cultivo de 75 cm^2, seguido de incubación en un incubador de cultivo de tejidos 37ºC hasta que las células crecieron y permanecieron estables (~ 3–4 días). Las células se dividieron dos veces a la semana a 0,1e6 células/ml. Las células se mantuvieron en medio R10 + higromicina B para la selección. Se usaron células para ensayos ~ 7 días después de la descongelación.

Para la estimulación de anticuerpos, se prepararon anticuerpos triespecíficos o de control a diversas concentraciones y se diluyeron en forma seriada en PBS. Se dispensaron 25 µl de anticuerpos por pocillo. Para los Ab unidos a placa, se utilizó la placa Maxisorp y se incubó a 4ºC durante la noche. Para los Abs solubles, se utilizó una placa de fondo en U. Las células indicadoras se resuspendieron a 0,3–0,5 e6/mL, y se añadieron 175 uL de células a cada pocillo, y se incubaron en incubador de CO_2 a 37ºC durante 6 horas. Después se sacó la placa del incubador y se dejó equilibrar a temperatura ambiente (10–15 minutos). A continuación se añadieron 50 µl de reactivo Bio–Glo™ (Promega Cat # G7941) (temperatura ambiente) a cada pocillo de la placa de ensayo. Después de la incubación durante 5 minutos, se midió la actividad de luminiscencia usando un contador de microplacas MicroBeta2 LumiJET (Perkin Elmer, tiempo de lectura de 1s). Los datos se graficaron usando el software GraphPad Prism.

Estabilidad conformacional

Las mediciones de termoestabilidad (por ejemplo, puntos de fusión, T_m) se determinaron usando fluorimetría diferencial de barrido (DSF). Las muestras se diluyeron en tampón D–PBS (Invitrogen) a una concentración final de 0,2 µg/µl incluyendo una solución concentrada 4x de colorante SYPRO–anaranjado (Invitrogen, patrón 5000x en DMSO) en D–PBS en placas de 96 pocillos con semifaldón blancas (BIORAD). Todas las mediciones se realizaron por duplicado utilizando un instrumento de PCR en tiempo real MyiQ2 (BIORAD). Las curvas de la primera derivada negativa (–d (RFU)/dT) de las curvas

de fusión se generaron en el software iQ5 v2.1 (BIORAD). Los datos luego se exportaron a Microsoft Excel para la determinación de T_m y la visualización gráfica de los datos.

Mediciones de IC_{50}

Detección de la actividad del anticuerpo contra IL–4 e IL–13 con una línea celular indicadora

Se determinaron las actividades de anticuerpos biespecíficos o derivados contra citoquinas IL4 e IL13 en células indicadoras HEK–Blue IL–4/IL–13 comercialmente disponibles (InvivoGen). Las células HEK–Blue IL–4/IL–13 están diseñadas para controlar la activación de la vía STAT6 por IL–4 o IL13. La estimulación de las células con cualquiera de las citoquinas da como resultado la producción de fosfatasa alcalina embrionaria secretada por el gen indicador (SEAP) que se puede medir en el sobrenadante de cultivo con el ensayo QUANTI–Blue. Para probar las actividades de anticuerpos contra IL4 o IL13, las citoquinas se preincubaron durante 1 hora con diferentes concentraciones de los anticuerpos y se añadieron a 50.000 células HEK–Blue IL–4/IL–13. La inducción mediada por citoquina de SEAP se midió después de 24 horas de incubación en el sobrenadante de cultivo celular con el ensayo QUANTI–Blue (InvivoGen). Cada experimento se realizó con n = 3 puntos de datos para cada concentración de anticuerpo. La mitad de la concentración inhibitoria máxima (CI_{50}) para cada anticuerpo se calculó a través de la aplicación interna Biostat–Speed V2.0 (Sanofi).

Detección de la actividad del anticuerpo contra TNFα cn una línea celular indicadora

Se determinaron las actividades de anticuerpos biespecíficos o derivados contra TNFa en mediante el uso de células indicadoras HEK–Blue TNF–a comercialmente disponibles (InvivoGen). Las células HEK–Blue TNF–a están diseñadas para detectar TNF–a bioactiva mediante el control de la activación de la vía NFkB por medio de la expresión de la fosfatasa alcalina embrionaria secretada por el gen indicador (SEAP) que se puede medir en el sobrenadante de cultivo con el ensayo QUANTI–Blue. Para determinar las actividades de anticuerpos contra TNFa, las citoquinas se preincubaron

durante 1 hora con diferentes concentraciones de los anticuerpos y se añadieron a 50.000 células HEK–Blue TNF–a. La inducción mediada por citoquina de SEAP se midió después de 24 horas de incubación en el sobrenadante de cultivo celular con el ensayo QUANTI–Blue (InvivoGen). Cada experimento se realizó con n = 3 puntos de datos para cada concentración de anticuerpo. Se calculó la mitad de la concentración inhibitoria máxima para cada anticuerpo.

Ejemplo 2: Panorama general de las proteínas de unión triespecíficas

Se desarrolló una estrategia novedosa para la generación de proteínas de unión triespecíficas. Las proteínas triespecíficas comprendían cuatro polipéptidos que formaban tres sitios de unión blanco (**FIGS. 1A–C**). Cada sitio de unión blanco comprendía el dominio V_H y V_L de un anticuerpo que dirigía un blanco de antígeno humano distinto (*Ver, por ejemplo*, la **Tabla 1**). Las proteínas de unión triespecíficas contenían un primer par de polipéptidos que poseían dominios variables duales que tenían una orientación cruzada que forman dos sitios de unión a antígenos distintos (denominado formato CODV Ig) y un segundo par de polipéptidos, cada uno con un dominio variable único que formaba un tercer sitio de unión al antígeno (**FIGS. 1A y 1B**).

Tabla 1: SEQ ID Nos de cadena pesada y ligera para las proteínas de unión 1–21, y los antígenos blanco a los que se dirigen las proteínas de unión.

Proteína de unión N.º	SEQ ID NOS	Dirigida a:
1	1, 2, 3, 4	Her2 x (CD28 x CD3)
2	1, 2, 9, 10	Her2 x (CD28 x CD3)
3	13, 14, 3, 4	CD19 x (CD28 x CD3)
4	13, 14, 9, 10	CD19 x (CD28 x CD3)
5	17, 18, 3, 4	CD38 x (CD28 x CD3)
6	17, 18, 9, 10	CD38 x (CD28 x CD3)
7	21, 22, 3, 4	LAMP1 x (CD28 x CD3)
8	21, 22, 9, 10	LAMP1 x (CD28 x CD3)
9	60, 61, 62, 63	TNFa x (IL4 x IL13)
10	60, 61, 68, 69	TNFa x (IL13 x IL4)
11	60, 71, 68, 69	TNFa x (IL13 x IL4)
12	73, 74, 75, 76	IL13 x (IL4 x TNFa)
13	73, 74, 81, 82	IL13 x (TNFa x IL4)
14	85, 86, 87, 88	IL4 x (IL13 x TNFa)
15	85, 86, 93, 94	IL4 x (TNFa x IL13)
16	73, 74, 68, 69	IL13 x (IL13 x IL4)
17	85, 86, 68, 69	IL4 x (IL13 x IL4)
18	73, 74, 62, 63	IL13 x (IL4 x IL13)
19	85, 86, 62, 63	IL4 x (IL4 x IL13)
20	114, 115, 3, 4	CD20 x (CD28 x CD3)
21	114, 115, 9, 10	CD20 x (CD28 x CD3)

El primer par de polipéptidos (que poseía los dominios variables duales) comprendía un primer polipéptido que tiene el dominio constante de la cadena ligera de la estructura V_{L2}–Ligador–V_{L1}–Ligador–Inmunoglobulina y un segundo polipéptido que tiene el dominio constante de la cadena pesada de la estructura V_{H1}–Ligador–V_{H2}–Ligador–Inmunoglobulina, que produce un par de polipéptidos que tiene una orientación cruzada que formaba dos sitios de unión de antígenos distintos: V_{H1}–V_{L1} y V_{H2}–V_{L2} (**FIG. 1C,** ver cadenas ligera y cadena pesada B). La **Tabla A** proporciona un resumen del diseño de la

rama biespecífica (es decir, la rama que comprende las cadenas pesada y ligera B) de las variantes IgG1 e IgG4 de proteínas de unión triespecíficas representativas, que incluyen la indicación de las diversas combinaciones de los ligadores usados en la rama biespecífica de las proteínas de unión triespecíficas. El segundo par de polipéptidos (que cada uno poseía un dominio variable único) comprendía un primer polipéptido que tiene el dominio constante de la cadena pesada de la estructura V_{H3}–Inmunoglobulina C_{H1}, y un segundo polipéptido que tiene el dominio constante de la cadena ligera de la estructura V_{L3}–Inmunoglobulina, que produce un par de polipéptidos que formaron un tercer sitio de unión al antígeno: V_{H3}–V_{L3} (**FIG. 1C,** ver cadenas ligera y pesada A). Además, las proteínas de unión triespecíficas se construyeron de tal manera que cualquiera de los dominios C_{H3} pueda incluir una modificación de botón o de ojal para facilitar la heterodimerización de anticuerpos (**FIG. 1**).

Tabla A: resumen del diseño de la rama biespecífica de las proteínas de unión triespecíficas como un IgG1 (Ojal) o IgG4 (Ojal)

		CD28 x CD3			**CD3 x CD28**			**CD28 x CD3**			**CD3 x CD28**		
		HC –1	HC –2	HC –3	HC –1	HC –2	HC –3	HC –1	HC –2	HC –3	HC –1	HC –2	HC –3
CD28 x CD3	LC–1	X											
	LC–2		X										
	LC–3			X									
CD3 x CD28	LC–1				X								
	LC–2					X							
	LC–3						X						
CD28 x CD3	LC–1							X					
	LC–2								X				
	LC–3									X			
CD3 x CD28	LC–1										X		
	LC–2											X	
	LC–3												X

Ligadores: [L3, L4]/[L1,L2] – [S, RT]/[GQPKAAP (SEQ ID NO:175), TKGPS (SEQ ID NO:106)];

[,] /[GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:104), GGGGSGGGGS (SEQ ID NO:104)]; o

[GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:105),]/[GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:105),]

Ejemplo 3: Actividad de unión *in vitro* y destrucción específica mediada por anticuerpos de acopladores de células T

Este ejemplo describe ensayos in vitro para caracterizar las actividades de los acopladores de células T.

Usando el enfoque descrito en el Ejemplo 2 anterior para el diseño de proteínas de unión triespecíficas, se generaron cuatro proteínas de unión triespecíficas (Proteínas de unión 1, 3, 5 y 6). Estas proteínas de unión triespecíficas se crearon por injerto sobre una estructura de proteína de unión triespecífica, los dominios V_H y V_L se aislaron de anticuerpos dirigidos a proteínas humanas distintas: CD3, CD19, CD28, CD38 o Her2. La proteína de unión 1 se construyó de tal manera que el primer par de polipéptidos (que formaban dos sitios de unión al antígeno) dirigidos a CD28 y CD3, y el segundo par de polipéptidos (que formaba el sitio de unión al antígeno único) dirigido a Her2 (Proteína de unión 1 = Her2 x (CD28 x CD 3)). La proteína de unión 3 se construyó de tal manera que el primer par de polipéptidos (que formaban dos sitios de unión al antígeno) dirigidos a CD28 y CD3, y el segundo par de polipéptidos (que formaban el sitio de unión al antígeno único) dirigido a CD19 (Proteína de unión 3 = CD19 x (CD28 x CD3)). La proteína de unión 5 se construyó de tal manera que el primer par de polipéptidos (que formaban dos sitios de unión al antígeno) dirigidos a CD28 y CD3, el segundo par de polipéptidos (que formaban el sitio de unión al antígeno único) dirigido a CD38 (Proteína de unión 5 = CD38 x (CD28 x CD3)). Proteína de unión 6 se construyó de tal manera que el primer par de polipéptidos (que formaban dos sitios de unión al antígeno) dirigidos a CD28 y CD3, el segundo par de polipéptidos (que formaban el sitio de unión al antígeno único) dirigido a CD38 (Proteína de unión 6 = CD38 x (CD28 x CD3)).

<u>Ensayos *in vitro* usando proteínas de unión triespecíficas que comprenden anti–Her2</u>

Para probar la capacidad de las proteínas de unión triespecíficas para dirigir y unir tres antígenos humanos diferentes, la especificidad de la Proteína de unión 1 para sus blancos se examinó primero mediante ensayo ELISA. La proteína de unión 1 era capaz de

unir las tres proteínas diana–CD3, CD28 y Her2 (**FIG. 2**)—lo que indica que cada dominio de unión en el formato triespecífico retuvo su función.

Las células ZR–75–1, AU565 ($Her2^+$), ARH–77 ($CD19^+$), MOLP–8, RPMI–8226, KMS–12_BM, NCI–H929, MM.1.S, MM.1., R OPM–2, KMS–26, y U266 ($CD38^+$) se marcaron con el colorante de membrana PKH–26 (Sigma) y se usaron como células blanco en un ensayo de citotoxicidad. Estas líneas de células marcadas se cocultivaron en una relación E: T de 10:1 con células T Pan humanas enriquecidas en presencia de concentraciones crecientes de un anticuerpo triespecífico, anticuerpo biespecífico o proteínas de control durante 24 horas. El grado de lisis celular en las células blanco se determinó mediante tinción con un marcador celular vivo/muerto (Life Technologies) y la medición del número de células muertas en la población de células blanco marcada mediante la corrida de las muestras en un citómetro de flujo Fortessa (Beckton Dickinson, San José, CA) seguido de análisis utilizando el software Flowjo (FlowJo v10).

Las líneas de células tumorales Her2 +, CD19 +, CD38 + se tiñeron con anticuerpos conjugados fluorescentemente contra CD3, CD28, CD19, CD38, LAMP1 y/o Her2 (Biolegend). También se incluyó la tinción con los respectivos anticuerpos de control apareados por isotipo. Las células se obtuvieron luego en el instrumento de Fortessa (Beckton Dickinson, San José, CA). El análisis de flujo se realizó en FlowJo v10. Los resultados de muerte mediada de varias proteínas de unión se muestran en las **FIGS. 3A–5**, **9A**, **9B**, & **11A–16**.

Se analizó la capacidad de la proteína de unión 1 para inducir la destrucción de células mediadas por anticuerpos de células tumorales que expresan proteínas HER2 en su superficie. No sólo la Proteína de unión 1 fue capaz de unirse a las tres de sus proteínas diana, sino que también fue capaz de inducir la destrucción celular mediada por anticuerpos de las líneas celulares Her2 + (**FIGS. 3A–4**). La proteína de unión 1 mostró potentes actividades de destrucción de células mediadas por anticuerpos, mientras que los anticuerpos Ab biespecífico anti–CD3/CD28 y anti–Her2 mostraron una actividad de

destrucción mínima (**FIGS. 3A, 3B, 4, & 5**), lo que demuestra la efectividad del uso del Ab triespecífico para acoplar células tumorales con células T a través de un antígeno tumoral (HER2) y marcadores de células T (CD3 y CD28). Anti–CD3/CD28 no solo es importante para el reclutamiento de células T, sino que también proporciona una activación de células T y señalización de supervivencia más efectivas, lo que mejora potencialmente la eficacia.

Además, se llevaron a cabo estudios sobre la activación y proliferación in vitro de células T, así como la producción de citoquinas, usando el anticuerpo triespecífico anti–Her2 x CD28 x CD3 (Proteína de unión 1). La Proteína de unión 1 y variantes de control que tienen uno o dos dominios de unión inactivados por mutagénesis dirigida al sitio (ΔCD28: anti–CD28 inactivado; ΔCD3: anti–CD3 inactivado; Δ(CD3xCD28) ambos anti–CD3 y anti–CD28 inactivados) se usaron en ensayos de activación in vitro de PBMC humanas como se describe en el Ejemplo 1. Los resultados mostraron que la Proteína de unión 1 activó las células T CD4 y células T CD8 primarias humanas efectivamente in vitro. La inactivación de anti–CD28 redujo la potencia de activación, lo que indica la importancia de la vía de coseñalización anti–CD28. La inactivación del sitio de unión a anti–CD3 hizo que la Proteína de unión 1 tuviera una actividad mínima, lo que sugiere que el anti–CD3 proporcionó la señalización de activación de células T primaria (**FIGS. 6A & 6B**). Se obtuvieron resultados similares usando líneas de células T humanas indicadoras de IL2 y NFAT (Jurkat–IL2 y Jurkat–NFAT) (Figuras 7A–7C).

Ensayos in vitro usando las proteínas de unión triespecíficas que comprenden anti–CD19

La proteína de unión triespecífica anti–CD19 x CD28 x CD3 fue capaz de unir sus antígenos blanco (**FIG. 8**), lo que indica que cada dominio de unión en el formato triespecífico retuvo su función.

La proteína de unión triespecífica anti–CD19 x CD28 x CD3 también fue capaz de inducir la destrucción celular mediada por anticuerpo de las células CD19+ (**FIGS. 9A–9N**). De modo similar, la proteína de unión triespecífica anti–CD19 x CD28 x CD3 exhibió potente actividad de destrucción contra las células de linfoma humano, mientras que los

anticuerpos anti–CD3/CD28, anti–CD19, y control de isotipo mostraron actividades de destrucción mínimas, lo que demuestra la efectividad de usar el Ab triespecífico para acoplar las células tumorales con las células T a través de un antígeno tumoral (CD19) y los marcadores de células T (CD3 y CD28).

Ensayos in vitro usando las proteínas de unión triespecíficas que comprenden anti–CD38

Como se observa con la Proteínas de unión 1 y 3, la Proteína de unión 5 fue capaz de unir sus tres proteínas diana (CD3, CD28, y CD38), evaluado por el ensayo ELISA **(FIG. 10**), lo que indica que cada dominio de unión en el formato triespecífico retuvo su función.

También se halló que la Proteína de unión 5 induce la destrucción celular mediada por anticuerpo de las células (**FIGS. 11A–15D**) contra 9 células de mieloma múltiple humano con varios niveles de expresión CD38 y CD28 (*ver* **FIGS. 11D, 12D, & 13D**). De modo similar, la proteína de unión triespecífica 5 exhibió potente actividad de destrucción contra las células de mieloma múltiple humano, mientras que los anticuerpos anti–CD38 control de isotipo mostraron actividades de destrucción mínimas, lo que demuestra la efectividad de usar el Ab triespecífico para acoplar las células tumorales con las células T a través de antígenos tumorales (CD38 y CD28) y los marcadores de células T (CD3 y CD28). Los anticuerpos de control anti–CD3/CD28 biespecíficos también mostraron actividad de destrucción marginal contra las células CD28+ MM *ver* **FIGS. 11B, 12A–C, & 13A–C**).

Estos resultados demuestran que la plataforma de anticuerpo triespecífico descrita en la presente proporciona la posibilidad de integrar sitios de unión para dos marcadores tumorales, o dos sitios de unión para marcadores de células T, lo que permite la flexibilidad para diseños científicos y diversas aplicaciones. La Proteína de unión 5 también fue efectiva contra 5 líneas celulares de linfoma humano CD38 + (**FIGS. 14C & 15D**), lo que muestra actividades de destrucción potentes (**FIGS. 14A–B & 15A–C**).

Se analizó la destrucción celular mediada por anticuerpo contra la línea celular de mieloma múltiple RPMI8226 usando las Proteínas de unión 5 y 6, y sus EC_{50}s se calcularon

y compararon con la de un anticuerpo biespecífico de formato CODV dirigido a CD28 y CD3 (**FIG. 16** y Tabla B). Las Proteínas de unión 5 y 6 difieren solo en el dominio de unión anti–CD28; la Proteína de unión 5 contiene un superagonista anti–CD28, mientras que la Proteína de unión 6 contiene un anti–CD28 convencional. La Proteína de unión 5 mostró una actividad de destrucción más potente.

Tabla B: Valores EC_{50} calculados para las proteínas de unión biespecíficas y triespecíficas

	EC_{50} (pM)
huCD28 x CD3 IgG4	56,16
Proteína de unión 5 IgG4	0,3787
Proteína de unión 6 IgG4	5,709

La actividad de la proteína de unión triespecífica anti–CD38 x CD28 x CD3 5 y las variantes de control que tienen uno o dos dominios de unión inactivados por mutagénesis dirigida al sitio (ΔCD28: anti–CD28 inactivado; ΔCD3: anti–CD3 inactivado; Δ(CD3xCD28) ambos anti–CD3 y anti–CD28 inactivados) se analizaron usando líneas de células T humanas indicadoras IL2 y NFAT (Jurkat–IL2 y Jurkat–NFAT) en el ensayo de activación in vitro que se describe en el Ejemplo 1. Los resultados mostraron que la Proteína de unión 5 activó los promotores de IL2 y NFAT humanos efectivamente *in vitro* (**FIGS. 17A & 17B**). La inactivación de anti–CD28 redujo la potencia de activación, que fue más prominente para el indicador IL2, lo que indica la importancia de la vía de coseñalización anti–CD28. La inactivación del sitio de unión a anti–CD3 hizo que la Proteína de unión 5 tuviera una actividad mínima, lo que sugiere que el anti–CD3 proporcionó la señalización de activación de células T primaria.

Ejemplo 4: Actividad in vivo de los acopladores de células T

Este ejemplo describe experimentos que caracterizan las propiedades y actividades *in vivo* de los acopladores de células T que contienen anti–Her2 o anti–CD38.

Ensayos in vivo usando proteínas de unión triespecíficas que comprenden anti–Her2

Se llevó a cabo un estudio de escalado de dosis usando el anticuerpo triespecífico Her2 x CD28 x CD3 en primates no humanos (**FIGS. 18A–18E**) como se describe en el Ejemplo 1. Los tres dominios de unión en la Proteína de unión 1 presentan reacción cruzada con CD3/CD28/HER2 de mono. Se diseñó un estudio de la toxicidad del escalado de dosis para evaluar el perfil de toxicidad potencial de la molécula. Se recogieron muestras de sangre para aislamientos de suero y PBMC. Las poblaciones de células T circulantes se investigaron después de cada dosificación (**FIGS.18A & 18B**), junto con la activación de la subpoblación de células T (CD69 +) (**FIGS. 18C & 18D**). El porcentaje de células T CD4 y CD8 en circulación aumentó con un escalado de dosis baja, pero finalmente disminuyó con un escalado de dosis alta. La activación de células T CD4 y CD8 significativa fue solo prominente a dosis de 100 µg/kg, lo que sugiere más bien una dosis tolerable relativamente alta. También se midió el nivel sérico de varias citoquinas. La liberación de citoquinas significativa solo se observó a la dosis más alta (100 µg/kg, **FIG. 18E**).

A continuación, se examinó el efecto del anticuerpo Proteína de unión 1 triespecífica anti–Her2 x CD28 x CD3 sobre el crecimiento tumoral en modelos de ratón humanizados como se describe en el Ejemplo 1 (**FIGS. 19A–20H**). Las **FIGS. 19A & 19B** resumen los resultados obtenidos usando el modelo de ratones NSG injertados con células madre hematopoyéticas CD34+ humanas (hu–CD34) inoculados con la línea de cáncer de mama HER2+ humana BT474. Se evidenciaron actividades antitumorales significativas en todos los grupos de dosis. La actividad antitumoral fue dependiente de la dosis, que es estadísticamente diferente en comparación con el grupo de control a 25 µg/kg. No se observó pérdida significativa de peso corporal en ningún grupo tratado.

También se realizó un 2do estudio in vivo usando un modelo de ratones NSG reconstituidos con PBMC humano inoculados con la línea de cáncer de mama HER2 + humano BT474 (**FIGS. 20A–20H**). Se observaron actividades antitumorales significativas dentro de grupos de dosis altas (100 y 500 µg/kg). Se observó una contracción tumoral en el 40% de los ratones en un grupo de 500 µg/kg. La actividad antitumoral fue dependiente

de la dosis. La actividad antitumoral en los grupos tratados con dosis de 100 y 500 µg/kg fue significativamente mejor que los grupos tratados con anti–HER2 (0,1 a 10 mg/kg), lo que indica una actividad antitumoral superior de la Proteína de unión 1. No se observó pérdida de peso corporal significativa en ningún grupo tratado observado.

Ensayos in vivo usando proteínas de unión triespecíficas que comprenden anti–CD38

Se llevó a cabo un estudio de escalado de dosis usando el anticuerpo triespecífico anti–CD38 x CD28 x CD3 en primates no humanos (Proteína de unión 5) como se describe en el Ejemplo 1 (**FIGS. 21A–21F**). Dos de los tres dominios de unión de la Proteína de unión 5 presentan reacción cruzada con CD3 y CD28 de mono. Se diseñó un estudio de la toxicidad del escalado de dosis para evaluar el perfil de toxicidad potencial de la molécula. Se recogieron muestras de sangre para aislamientos de suero y PBMC. Las poblaciones de células T circulantes se investigaron después de cada dosificación (**FIGS. 21A & 21B**, gráficos de barras), junto con la activación de la subpoblación de células T (CD69+) (**FIGS. 21A & 21B**, gráficos de líneas).El porcentaje de células T CD4 y CD8 en circulación aumentó con un escalado de dosis baja, pero finalmente disminuyó con un escalado de dosis alta. La activación de células T CD4 y CD8 significativa fue solo prominente a dosis de 100 µg/kg, lo que sugiere más bien una dosis tolerable relativamente alta. También se midió el nivel sérico de varias citoquinas. La liberación de citoquinas significativa solo se observó a la dosis más alta (100 µg/kg, **FIGS. 21C–21F**).

La actividad *in vivo* del anticuerpo triespecífico anti–CD38 x CD28 x CD3 se analizó a continuación en ratones humanizados (**FIGS. 22A–23D**) como se describe en el Ejemplo 1. Las **FIGS. 22A–22C** resumieron el resultado de un estudio experimental determinante de la dosis usando el modelo de ratón NSG injertado con células madre hematopoyéticas CD34+ humanas (hu–CD34) implantado con la línea de células MM humanas RPMI–8226 transducidas con CD38 y PD–L1, tratadas con la Proteína 5 de unión a dosis de 5, 50 y 100 µg/kg. La actividad antitumoral significativa solo fue evidente en el grupo tratado con 5

µg/kg (**FIG. 22A**). La infiltración de células T CD8 se observó en ratones tratados con la Proteína 5 de unión (5 µg/kg) (**FIGS. 22B & 22C**).

Se realizó un estudio de seguimiento en el mismo modelo usando la Proteína de unión 5 a una dosis de 0,04–5 µg/kg **(FIGS. 23A–23D**). Se demostró una actividad antitumoral significativa en todo el grupo tratado con la Proteína de unión 5 (**FIG. 23B**), que eran estadísticamente diferentes del control al final del estudio (**FIG. 23C**). No se observó pérdida de peso corporal significativa en ningún grupo tratado (**FIG. 23A**). Se observó la inducción dependiente de la dosis de las citoquinas inflamatorias séricas IFN–γ, TNF–α e IL–2 cuatro horas después de la primera dosis en ratones tratados con concentraciones indicadas de la Proteína de unión 5 o control PBS (**FIG. 23D**), lo que indica la activación efectiva de células T por la proteína de unión triespecífica 5 in vivo.

Los ratones CD34 + NSG humanizados (n = 3) se inyectaron i.v. con 100 mcg/kg de Ab tri–específico (triángulo), Ab bi–específico (cuadrado) o Ab específico único (círculo). La activación de células T CD4+ o CD8+ se midió a 0 (preinyección), 1, 24 y 72 horas después de la inyección de Ab mediante la determinación del % de aumento medio de CD69, % de disminución de CD62L y/o concentración de citoquinas inflamatorias en plasma en cada uno de los puntos de tiempo de la tecnología de multiplexación Luminex xMAP. Los resultados de activación de células T de diversos anticuerpos triespecíficos se muestran en las **FIGS. 24–26C**.

Se estudió la activación in vivo sistémica de células T en ratones NSG injertados con células madre hematopoyéticas CD34+ humanas (hu–CD34) hematopoyéticos humanos CD34 + (hu–CD34) después de la administración de la Proteína 5 de unión, anticuerpo biespecífico anti–CD3/CD28_IgG4 y controles de anticuerpo IgG4 anti–CD28 (**FIG. 24**). Se administraron 100 µg/kg de la Proteína de unión 5 y anticuerpos de control en 3 ratones/grupo. Se recogieron muestras de sangre a preinyección, 1 hora, 24 horas y 72 horas después de la administración. Se aislaron sueros de ratón y células T humanas de sangre, y se preservaron para el análisis de activación de células T y para la medición

del nivel sérico de citoquinas. Las **FIGS. 24 & 25** muestran que las células T CD4 y CD8 humanas se activaron 1 hora después de la infusión de anticuerpos, que volvieron a los valores iniciales a las 72 horas. Las **FIGS. 26A–26C** muestran la elevación de la liberación de IFN–γ, TNF–α e IL–2 sérica en los mismos ratones, que se observó 1 hora después de la infusión y se devolvió a los valores iniciales 24 horas más tarde. Estos resultados demostraron que tanto la Proteína de unión 5 como el anticuerpo biespecífico IgG4 anti–CD3/CD28 son eficaces en la activación de células T en el modelo animal dado, lo que los hace adecuados para el estudio de eficacia in vivo.

Ejemplo 5: Caracterización de proteínas de unión triespecíficas y trivalentes biespecíficos dirigidas a citoquinas

El siguiente ejemplo describe experimentos que caracterizan la estabilidad, las propiedades de unión y las actividades de nuevas proteínas de unión triespecíficas y trivalentes biespecíficas que se dirigen a citoquinas humanas.

Se diseñaron proteínas de unión triespecíficas (por ejemplo, que se unen a tres proteínas diana diferentes, Proteínas de unión 9–15), así como proteínas de unión trivalentes biespecíficas (por ejemplo, que unen un antígeno bivalente sobre un antígeno monovalente, Proteínas de unión 16–19) (Tabla C). Con la excepción de la Proteína de unión 11 donde se usó un dominio constante kappa tanto en la CODV–LC como en la LC–rama Fab, todas las otras proteínas de unión (9–10 y 12–19) se produjeron con un dominio constante kappa en la CODV–LC y un dominio constante lambda en el Fab–rama–LC. Como esqueleto Fc se utilizó la secuencia de IgG1. Mientras que el CODV–HC alberga las mutaciones botón–RF (S354C, T366W, H435R e Y436F), Fab–rama–HC contiene las mutaciones de ojal (Y349C, T366S, L368A, Y407V).

Tabla C: resumen de las proteína de unión triespecíficas/ trivalentes dirigidas a anti–IL–4/IL–13/TNFα

Anticuerpo	Especificidad	Constructo	Formato
Proteína de unión 9	(anti–IL4 x anti–IL13) x anti–TNFα	(CODV–Fab) x Fab–IgG1 Fc	Triespecífico
Proteína de unión 10	(anti–IL13 x anti–IL4) x anti–TNFα	(CODV–Fab) x Fab–IgG1 Fc	Triespecífico
Proteína de unión 11	(anti–IL13 x anti–IL4) x anti–TNFα	(CODV–Fab) x Fab–IgG1 Fc	Triespecífico
Proteína de unión 12	(anti–IL4 x anti–TNFα) x anti–IL13	(CODV–Fab) x Fab–IgG1 Fc	Triespecífico
Proteína de unión 13	(anti–TNFα x anti–IL4) x anti–IL13	(CODV–Fab) x Fab–IgG1 Fc	Triespecífico
Proteína de unión 14	(anti–IL13 x anti–TNFα) x anti–IL4	(CODV–Fab) x Fab–IgG1 Fc	Triespecífico
Proteína de unión 15	(anti–TNFα x anti–IL13) x anti–IL4	(CODV–Fab) x Fab–IgG1 Fc	Triespecífico
Proteína de unión 16	(anti–IL13 x anti–IL4) x anti–IL13	(CODV–Fab) x Fab–IgG1 Fc	Trivalente biespecífico
Proteína de unión 17	(anti–IL13 x anti–IL4) x anti–IL4	(CODV–Fab) x Fab–IgG1 Fc	Trivalente biespecífico
Proteína de unión 18	(anti–IL4 x anti–IL13) x anti–IL13	(CODV–Fab) x Fab–IgG1 Fc	Trivalente biespecífico
Proteína de unión 19	(anti–IL4 x anti–IL13) x anti–IL4	(CODV–Fab) x Fab–IgG1 Fc	Trivalente biespecífico

Las proteínas de unión triespecíficas y trivalentes biespecíficas se produjeron y purificaron como se describió anteriormente (**FIG. 27**).

Tabla D: Purificación SEC de las Proteínas de unión 16–19

Constructo	Retención (mL)	Altura del pico (mAU)	Área (mAU*mL)	Agregación (%)	MW por SEC (kDa)	MW Calc. (kDa)
Proteína de unión 16	3,02	64,8	8,1	1,5	211	11
Proteína de unión 17	2,99	65,9	8,9	2,1	225	172
Proteína de unión 18	3,01	72,9	8,8	0,0	214	171
Proteína de unión 19	2,98	73,2	8,8	0,9	228	171

Con el fin de evaluar la estabilidad de las proteínas de unión triespecíficas, su punto de fusión se evaluó por DSF y se comparó con la termoestabilidad de los anticuerpos originales.

Tabla E: resumen de la termoestabilidad por DSF u porcentaje de monómeros de la cromatografía de exclusión por tamaño preparativa para varias proteínas de unión triespecíficas

Constructo	Tm (°C)		Monómero SEC prep (%)
IL4	70	81	100
IL13	67	78	92,5
TNFα	70	–	nd
Proteína de unión 9	63	–	92,2
Proteína de unión 10	62	–	85,7
Proteína de unión 11	63	70	65,7
Proteína de unión 12	59	70	87,3
Proteína de unión 13	59	70	94,5
Proteína de unión 14	56	69	92,4
Proteína de unión 15	58	66	92,2
IL13 x IL4	63	75	88,0
IL4 x IL13	64	–	nd

nd = no determinado

Para evaluar la afinidad de unión de cada dominio de unión de anticuerpo único dentro del formato triespecífico, se realizó el análisis de SPR para cada antígeno único como se describió anteriormente. Los resultados se compararon con las afinidades de los anticuerpos originales (Tablas F, G y H).

Tabla F: resumen de resultados de resonancia de plasmón superficial para IL–4 para varias proteínas de unión triespecíficas

Constructo	Ka [1/M*s]	Kd [1/s]	KD [M]		Rmax	Chi^2
IL4	8,70E+07	1,57E–04	1,81E–12		24	0,24
IL13						
TNFα						
Proteína de unión 9	7,86E+07	3,80E–04	4,83E–12		26	0,309
Proteína de unión 10	1,88E+07	8,41E–05	4,47E–12		23	0,763
Proteína de unión 11	5,92E+07	2,39E–04	4,04E–12		20	0,198
Proteína de unión 12	6,02E+07	2,39E–04	3,97E–12		35	0,406
Proteína de unión 13	3,57E+07	1,81E–04	5,07E–12		30	0,257
Proteína de unión 14	8,96E+07	1,52E–04	1,69E–12		33	0,254
Proteína de unión 15	7,35E+07	1,23E–04	1,67E–12		31	0,547

Tabla G: resumen de resultados de resonancia de plasmón superficial para IL–13 para varias proteínas de unión triespecíficas

Constructo	Ka [1/M*s]	Kd [1/s]	KD [M]	Rmax	Chi^2
IL4					
IL13	2,44E+05	2,50E–05	1,03E–10	33	0,938
TNFα					
Proteína de unión 9	6,25E+05	9,27E–06	1,48E–11	22	0,176
Proteína de unión 10	7,16E+05	3,76E–05	5,25E–11	25	0,145
Proteína de unión 11	2,95E+05	4,28E–05	1,45E–10	16	0,372
Proteína de unión 12	4,17E+05	5,06E–05	1,21E–10	28	0,338

Proteína de unión 13	6,15E+05	7,58E–05	1,23E–10	23	0,186
Proteína de unión 14	6,93E+05	1,19E–04	1,72E–10	22	0,232
Proteína de unión 15	2,50E+05	5,61E–05	2,24E–10	30	0,631

Tabla H: resumen de resultados de resonancia de plasmón superficial para TNFα para varias proteínas de unión triespecíficas

Constructo	**Ka [1/M*s]**	**Kd [1/s]**	**KD [M]**	**Rmax**	**Chi^2**
IL4					
IL13					
TNFα	1,78E+05	1,64E–04	9,22E–10	33	0,745
Proteína de unión 9	1,32E+05	3,20E–04	2,42E–9	23	0,213
Proteína de unión 10	1,40E+05	2,90E–04	2,07E–9	27	0,241
Proteína de unión 11	3,36E+05	1,82E–04	5,41E–10	28	0,539
Proteína de unión 12	4,49E+05	1,80E–04	4,00E–10	28	0,647
Proteína de unión 13	5,84E+05	1,96E–04	3,35E–10	27	0,529
Proteína de unión 14	5,29E+05	1,86E–04	3,52E–10	25	0,485
Proteína de unión 15	5,59E+05	1,84E–04	3,28E–10	27	0,409

Con el fin de evaluar la actividad de neutralización de las proteínas de unión triespecíficas, se llevó a cabo un ensayo celular usando diferentes kits de HEK Blue (Invivogen). Las citoquinas se preincubaron con diferentes concentraciones de anticuerpos anti–citoquina durante 30 minutos a temperatura ambiente en una placa de 96 pocillos. Los controles incluyeron el uso solo de citoquina o solo del anticuerpo. Se añadieron 50.000 células HEK Blue (células HEK Blue TNFa/IL1ß (InvivoGen, Cat. # Hkb–tnfil1; células HEK

Blue STAT–6 (InvivoGen, Cat. # Hkb.stat6) a la mezcla de citoquinas/anticuerpos y se incubaron durante 23 horas a 37ºC, CO_2 5% en un incubador. Se añadió Reactivo QuantiBlue a cada pocillo de cultivo y se incubó durante 2 horas a 37ºC. La OD se midió a 620 nm y se calculó la IC50 usando BioStat Speed 2.0 Los resultados del ensayo celular indicador HEK Blue de diversos anticuerpos triespecíficos se muestran en las Tablas I y M.

A continuación, se calcularon los valores de IC_{50} para las Proteínas de unión 9–15 y se compararon contra los anticuerpos originales individuales (Tabla I).

Tabla I: resumen de ensayos indicadores HEK Blue (datos IC_{50}) para varias proteínas de unión triespecíficas

Constructo	IL4 IC_{50} (ng/mL)	IL13 IC_{50} (ng/mL)	TNFα IC_{50} (ng/mL)
IL4	2,14E+00 1,85E+00 1,82E+01	–	–
IL13	–	1,10E+02 8,83E+01 1,42E+01	–
TNFα	–	–	3,63E+00 5,78E+00 2,41E+00
Proteína de unión 9	4,51E+00	1,77E+02	3,95E+01
Proteína de unión 10	5,93E+00	4,68E+02	4,76E+01
Proteína de unión 11	6,96E+00	4,89E+02	2,65E+01
Proteína de unión 12	5,03E+00	1,83E+02	2,17E+01
Proteína de unión 13	1,38E+01	7,54E+01	2,26E+01
Proteína de unión 14	1,02E+01	1,20E+02	6,26E+00
Proteína de unión 15	1,30E+01	1,07E+02	2,38E+01

La termoestabilidad de las proteínas de unión trivalentes biespecíficas por fluorometría de barrido diferencial (DSF; Tabla J).

Tabla J: Resumen de la termoestabilidad por DSF para varias proteínas de unión trivalentes

Constructo	Tm1 (°C)	Tm2 (°C)
IL4	70	81
IL13	67	78
Proteína de unión 16	63	–
Proteína de unión 17	63	–
Proteína de unión 18	65	–
Proteína de unión 19	55	–

Se midió la afinidad de unión y el número de proteínas diana unidas por cada una de las proteínas de unión trivalente biespecíficas para IL–4 humana (Tabla K) e IL–13 (Tablas K y L).

Tabla K: resumen de resultados de resonancia de plasmón superficial para IL–4 para varias proteínas de unión trivalentes

Constructo	Captura RU	Analito	Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	Rmax (RU)	KD (M)	Chi2	kDa unido	No. de ILs unidas
IL4	116	IL4	8,70 E+07	1,57 E–04	24	1,81 E–12	0,240	15	1
Proteína de unión 16	218	IL4	4,77 E+07	2,80 E–04	20	5,88 E–12	0,172	17	1
Proteína de unión 17	218	IL4	3,16 E+08	7,60 E–04	43	2,40 E–12	0,278	35	2
Proteína de unión 18	215	IL4	3,52 E+07	3,59 E–04	22	1,02 E–12	0,408	18	1
Proteína de unión 19	226	IL4	8,27 E+07	3,85 E–04	43	4,65 E–12	0,486	34	2

Tabla L: resumen de resultados de resonancia de plasmón superficial para IL–13 para varias proteínas de unión trivalentes

Constructo	Captura RU	Analito	Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	Rmax (RU)	KD (M)	Chi2	kDa unido	No. de ILs unida
IL13	201	IL13	8,95 E+05	5,47 E–05	37	6,11 E–11	0,211	14	1
Proteína de unión 16	226	IL13	7,17 E+05	4,54 E–05	35	6,34 E–11	0,132	26	2
Proteína de unión 17	235	IL13	5,92 E+05	5,70 E–05	15	9,64 E–11	0,128	11	1
Proteína de unión 18	231	IL13	1,00 E+06	3,54 E–05	35	3,53 E–11	0,166	28	2
Proteína de unión 19	282	IL13	1,91 E+06	3,81 E–05	18	2,00 E–11	0,265	14	1

Finalmente, los valores de IC_{50} se calcularon para las Proteínas de unión 16–19 (Tabla M).

Tabla M: resumen de los ensayos indicadoras HEK Blue (datos IC_{50}) para varias proteína de unión trivalentes

Constructo	IL4 IC_{50} (ng/mL)	IL13 IC_{50} (ng/mL)
IL4	6,07E+00	–
IL13	–	1,12E+03
Proteína de unión 16	1,30E+01	1,24E+03
Proteína de unión 17	8,62E+00	9,30E+03
Proteína de unión 18	1,46E+01	1,10E+03
Proteína de unión 19	5,73E+00	6,93E+03

Ejemplo 6: Optimización del formato de la proteína de unión triespecífica

Un problema con muchos formatos de proteínas de unión heterodiméricas existentes (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos y sus variantes) es que puede ser difícil purificar solo las especies heterodiméricas deseadas sin incluir también especies homodiméricas. De este modo, un proceso para la purificación eficiente de la proteína de unión heterodimérica deseada es de gran interés, por ejemplo, para la producción a escala industrial.

Como se describe en la presente, las proteínas de unión de la presente descripción pueden incluir varias características opcionales, que incluyen, sin limitación, mutaciones de botón y ojal (por ejemplo, para promover la formación apropiada de heterodímeros) y mutaciones para mejorar la purificación. Además, estas proteínas de unión incluyen dos cadenas ligeras, que llevan a a cuatro configuraciones potenciales: dos cadenas ligeras kappa, dos cadenas ligeras lambda, una cadena ligera kappa en la rama con dominios variables duales (la "rama CODV") y una cadena ligera lambda en la rama de anticuerpo

tradicional (la “rama Fab”) y una cadena ligera lambda en la rama CODV y una cadena ligera kappa en la rama Fab.

Por lo tanto, se llevaron a cabo experimentos para identificar un procedimiento que permite una purificación eficiente de la proteína de unión deseada de interés. También se analizaron las variantes de las proteínas de unión para determinar su eficiencia de purificación.

La **FIG. 28A** muestra un diagrama de un ejemplo de proteína de unión de la presente descripción, que indica variaciones que llevan a configuraciones únicas. Estos experimentos probaron el efecto de la colocación de cadenas ligeras kappa y lambda (por ejemplo, dos kappa, dos lambda, kappa en la rama CODV y lambda en la rama Fab, y lambda en la rama CODV y kappa en la rama Fab) , mutaciones de botón y ojal (*por ejemplo*, mutaciones de botón en la rama CODV y las mutaciones de ojal en la rama Fab, o mutaciones de ojal en la rama CODV y mutaciones de botón en la rama Fab), y mutaciones H435R/Y436F (“mutaciones RF” *por ejemplo*, mutaciones RF en la rama CODV o Fab, o sin mutaciones RF). Se analizó un total de 18 variantes diferentes, como se muestra en la **FIG. 28B**. Para estos experimentos, la rama CODV tenía sitios de unión al antígeno específicos para TNFa (*es decir,* secuencias de VH y VL de las SEQ ID NOs:168 y 169, respectivamente) e IL4 (*es decir*, secuencias de VH y VL de las SEQ ID NOs:170 y 171, respectivamente), mientras que la rama Fab tenía un sitio de unión al antígeno específico para IL13 (es decir, secuencias VH y VL de SEQ ID NO: 172 y 173, respectivamente). Se utilizaron S354C y T366W para las mutaciones de botón y se usaron Y349C, T366S, L368A e Y407V para las mutaciones de ojal.

Se ensayaron varias etapas de procesamiento para determinar la capacidad de controlar el apareamiento correcto de las ramas CODV y Fab (por ejemplo, en oposición a los homodímeros CODV o Fab), así como el apareamiento cadena pesada–cadena ligera correcto (por ejemplo, en oposición al apareamiento entre la cadena ligera de la rama Fab y la cadena pesada de la rama CODV, o entre la cadena pesada de la rama Fab y la cadena

ligera de la rama CODV). Se encontró que la cromatografía de exclusión de tamaño analítica (SEC) era ineficaz para distinguir el apareamiento correcto de cadena pesada y cadena ligera; se encontró que las proteínas de unión con cadena ligera de la rama Fab mal apareada con la cadena pesada de CODV y las proteínas de unión homodiméricas con dos ramas Fab coeluyen con las proteínas de unión triespecíficas deseadas. Sin embargo, se encontró que la cromatografía de interacción hidrofóbica analítica (HIC) resuelve las proteínas de unión triespecíficas deseadas de las proteínas de unión con la cadena ligera de la rama Fab mal apareada con la cadena pesada CODV y las proteínas de unión homodiméricas con dos ramas Fab (**FIG. 29**).

Las 18 configuraciones de proteínas de unión mostradas en la **FIG. 28B** se purificaron mediante cromatografía de afinidad de Proteína A, después purificación KappaSelect (GE Healthcare). Las especies se controlaron mediante cromatografía HIC. Una configuración de proteína de unión se purificó eficientemente sin inclusión de especies mal apareadas: cadena ligera lambda para la rama CODV, cadena ligera kappa para la rama Fab, mutaciones Botón en la rama CODV, mutaciones de botón en la rama CODV, mutaciones de ojal en la rama Fab, y mutaciones RF en la rama Fab. La cromatografía HIC (**FIG. 30A**), SDS–PAGE (**FIG. 30B**), y el análisis de masa intacta demostraron que se purificó una única especie correspondiente a la proteína de unión triespecífica deseada.

Estos resultados identifican una configuración de proteína de unión que permite una purificación más eficiente de las proteínas de unión de interés lejos de las especies mala apareadas. Además, se demostró que el proceso de purificación de la Proteína A seguido de las etapas de purificación de KappaSelect proporciona una separación efectiva de las proteínas de unión de interés lejos de las especies mal apareadas.

Si bien la descripción incluye varias realizaciones, se entiende que a los expertos en la técnica se les ocurrirán variaciones y modificaciones. Por lo tanto, se considera que las reivindicaciones adjuntas cubren todas las variaciones equivalentes que entren dentro

del alcance de la descripción. Además, los títulos de sección usados en la presente son solo a fines de organización y no se deben ser interpretar como limitantes del tema descrito.

Cada realización descrita en la presente se puede combinar con cualquier otra realización o realizaciones a menos que se indique claramente lo contrario. En particular, cualquier característica o realización indicada como preferida o ventajosa se puede combinar con cualquier otra característica o características o realización o realizaciones indicadas como preferidas o ventajosas, a menos que se indique claramente lo contrario.

Todas las referencias citadas en esta solicitud se incorporan expresamente en la presente como referencia.

SECUENCIAS

Tabla 1: SEQ ID NOs de cadena pesada y ligera para las proteínas de unión 1–21 y los antígenos blanco a los que se dirigen las proteínas de unión.

Proteína de unión N.º	SEQ ID NOs incluidas	Dirigidas a:
1	1, 2, 3, 4	Her2 x (CD28 x CD3)
2	1, 2, 9, 10	Her2 x (CD28 x CD3)
3	13, 14, 3, 4	CD19 x (CD28 x CD3)
4	13, 14, 9, 10	CD19 x (CD28 x CD3)
5	17, 18, 3, 4	CD38 x (CD28 x CD3)
6	17, 18, 9, 10	CD38 x (CD28 x CD3)
7	21, 22, 3, 4	LAMP1 x (CD28 x CD3)
8	21, 22, 9, 10	LAMP1 x (CD28 x CD3)
9	60, 61, 62, 63	TNFa x (IL4 x IL13)
10	60, 61, 68, 69	TNFa x (IL13 x IL4)
11	60, 71, 68, 69	TNFa x (IL13 x IL4)
12	73, 74, 75, 76	IL13 x (IL4 x TNFa)
13	73, 74, 81, 82	IL13 x (TNFa x IL4)
14	85, 86, 87, 88	IL4 x (IL13 x TNFa)
15	85, 86, 93, 94	IL4 x (TNFa x IL13)
16	73, 74, 68, 69	IL13 x (IL13 x IL4)
17	85, 86, 68, 69	IL4 x (IL13 x IL4)
18	73, 74, 62, 63	IL13 x (IL4 x IL13)
19	85, 86, 62, 63	IL4 x (IL4 x IL13)
20	114, 115, 3, 4	CD20 x (CD28 x CD3)
21	114, 115, 9, 10	CD20 x (CD28 x CD3)

Table 2: Secuencias de cadena pesada y ligera de proteínas de unión específicamente dirigidas a Her2, CD3, CD28, CD19 y/o CD20. Las secuencias CDR están en negrita e itálica.

Secuencias de aminoácidos de proteína de unión 1		
Cadena pesada A (Anti–Her2–H_Botón)	**Anti–Her2–H_Botón:** Evqlvesggglvqpggslrlscaas***gfnikdti***ihwvrqapgkglewva r***iiptngit***riadsvkgrftisadtskntailqmnslraedtaviic***srwggd gfiamdi***wgqgtlvtvssastkgpsvfplapcsrstsestaalgclvkdif pepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglislssvvtvpssslgtktitcnvd	**SEQ ID NO: 1**

	hkpsntkvdkrveskigppcppcpapeflggpsvflfppkpkdtlmisrt pevtcvvvdvsqedpevqfnwivdgvevhnaktkpreeqfnstirvvsv ltvlhqdwlngkeikckvsnkglpssiektiskakgqprepqvitlppcqe emtknqvslwclvkgfipsdiavewesngqpennikttppvldsdgsffli skltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhitqkslslslgk	
Cadena ligera A (Anti–Her2–L)	**Anti–Her2–L:** Diqmtqspsslsasvgdrvtitcras***qdvnta***vawiqqkpgkapkllii***s as***flisgvpsrfsgsrsgtdftltisslqpedfatiic***qqhittppt***fgqgtkvei krtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfipreakvqwkvdnalqsg nsqesvteqdskdstislsstltlskadiekhkviacevtqglsspvtksfnr gec	**SEQ ID NO: 2**
Cadena pesada B (Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal)	**Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal:** Qvqlvqsgaevvkpgasvkvsckas***gitftsii***ihwvrqapgqglewig s***iipgnvnt***niaqkfqgratltvdtsistaimelsrlrsddtaviic***trshigl dwnfdv***wgkgttvtvsssqvqlvesgggvvqpgrslrlscaas***gftftk aw***mhwvrqapgkqlewvaq***ikdksns***iatiiadsvkgrftisrddsknt lilqmnslraedtaviic***rgviialspfdi***wgqgtlvtvssrtastkgpsvfpl apcsrstsestaalgclvkdifpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssgli slssvvtvpssslgtktitcnvdhkpsntkvdkrveskigppcppcpapef lggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwivdgvev hnaktkpreeqfnstirvvsvltvlhqdwlngkeikckvsnkglpssiekti skakgqprepqvctlppsqeemtknqvslscavkgfipsdiavewesn gqpennikttppvldsdgsfflvskltvdksrwqegnvfscsvmhealhn hitqkslslslgk	**SEQ ID NO: 3**
Cadena ligera B (Anti–CD3 x Anti–CD28–L)	**Anti–CD3 x Anti–CD28–L:** Divmtqtplslsvtpgqpasisckss***qslvhnnanti***lswilqkpgqsp qslii***kvs***nrfsgvpdrfsgsgsgtdftlkisrveaedvgviic***gqgtqip***ftf gsgtkveikgqpkaapdiqmtqspsslsasvgdrvtitcqas***qniivw***l nwiqqkpgkapkllii***kas***nlhtgvpsrfsgsgsgtdftltisslqpediatiic ***qqgqtipit***fgqgtkleiktkgpsrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcll nnfipreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstislsstltlskadie khkviacevtqglsspvtksfnrgec	**SEQ ID NO: 4**
Secuencias de nucleótidos de proteína de unión 1		
Cadena pesada A (Anti–Her2–H_Botón:)	**Anti–Her2–H_Botón:** gaagtgcagctggtggaatctggcggcggactggtgcagcctggcgga tctctgagactgagctgtgccgccagcggcttcaacatcaaggacacct acatccactgggtgcgccaggcccctggcaagggactggaatgggtg gccagaatctaccccaccaacggctacaccagatacgccgacagcgt gaagggccggttcaccatcagcgccgacaccagcaagaacaccgcc tacctgcagatgaacagcctgcgggccgaggacaccgccgtgtactac tgtagtagatggggaggcgacggcttctacgccatggactattggggcc agggcaccctcgtgaccgtgtctagtgcgtcgaccaagggcccatcggt gttccctctggccccttgcagcagaagcaccagcgaatctacagccgcc ctgggctgcctcgtgaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctg gaactctggcgctctgacaagcggcgtgcacacctttccagccgtgctcc agagcagcggcctgtactctctgagcagcgtcgtgacagtgcccagca gcagcctgggcaccaagacctacacctgtaacgtggaccacaagccc agcaacaccaaggtggacaagcgggtggaatctaagtacggccctcc ctgccctccttgcccagcccctgaatttctgggcggaccctccgtgttcctg ttcccccccaaagcccaaggacaccctgatgatcagccggacccccga agtgacctgcgtggtggtggatgtgtcccaggaagatcccgaggtgcag	**SEQ ID NO: 5**

	ttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaag cccagagaggaacagttcaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctg accgtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaa ggtgtccaacaagggcctgcccagctccatcgagaaaaccatcagca aggccaagggccagccccgcgagcctcaagtgtataccctgccccctt gccaggaagagatgaccaagaaccaggtgtccctgtggtgtctcgtga aaggcttctaccccagcgacattgccgtggaatgggagagcaacggcc agcccgagaacaactacaagaccacccccctgtgctggacagcgac ggctcattcttcctgtactccaagctgaccgtggacaagagccggtggca ggaaggcaacgtgttcagctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaa ccactacacccagaagtccctgtctctgtccctgggcaag	
Cadena ligera A (Anti–Her2–L:)	**Anti–Her2–L:** gacatccagatgacccagagccccagcagcctgtctgccagcgtggg cgacagagtgaccatcacctgtagagccagccaggacgtgaacaccg ccgtggcctggtatcagcagaagcctggcaaggcccccaagctgctga tctacagcgccagcttcctgtacagcggcgtgcccagcagattcagcgg aagcagaagcggcaccgacttcaccctgaccatcagctccctgcagcc cgaggacttcgccacctactactgccagcagcactacaccacccccc cacatttggccagggcaccaaggtggaaatcaagcgtacggtggccg ctcccagcgtgttcatcttcccacctagcgacgagcagctgaagtccggc acagcctctgtcgtgtgcctgctgaacaacttctacccccgcgaggccaa agtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagagcggcaacagccag gaaagcgtgaccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctga gcagcaccctgacactgagcaaggccgactacgagaagcacaaggt gtacgcctgcgaagtgacccaccagggcctgtctagccccgtgaccaa gagcttcaaccggggcgagtgt	**SEQ ID NO: 6**
Cadena pesada B (Anti–CD28 x Anti–CD3–H_OjaI:)	**Anti–CD28 x Anti–CD3–H_OjaI:** caggtgcagctggtgcagtctggcgccgaggtcgtgaaacctggcgcct ctgtgaaggtgtcctgcaaggccagcggctacacctttaccagctactac atccactgggtgcgccaggcccctggacagggactggaatggatcggc agcatctaccccggcaacgtgaacaccaactacgcccagaagttcca gggcagagccaccctgaccgtggacaccagcatcagcaccgcctaca tggaactgagccggctgagaagcgacgacaccgccgtgtactactgca cccggtcccactacggcctggattggaacttcgacgtgtggggcaaggg caccaccgtgacagtgtctagcagccaggtgcagctggtggaatctggc ggcggagtggtgcagcctggcagaagcctgagactgagctgtgccgc cagcggcttcaccttcaccaaggcctggatgcactgggtgcgccaggc ccctggaaagcagctggaatgggtggcccagatcaaggacaagagc aacagctacgccacctactacgccgacagcgtgaagggccggttcac catcagccgggacgacagcaagaacaccctgtacctgcagatgaaca gcctgcgggccgaggacaccgccgtgtactactgtcggggcgtgtacta tgccctgagccccttcgattactggggccagggaaccctcgtgaccgtgt ctagtcggaccgccagcacaaagggcccatcggtgttccctctggcccc ttgcagcagaagcaccagcgaatctacagccgccctgggctgcctcgt gaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggcgctc tgacaagcggcgtgcacacctttccagccgtgctccagagcagcggcc tgtactctctgagcagcgtcgtgacagtgcccagcagcagcctgggcac caagacctacacctgtaacgtggaccacaagcccagcaacaccaag gtggacaagcgggtggaatctaagtacggccctccctgccctccttgcc cagcccctgaatttctgggcggaccctccgtgttcctgttcccccaaagc	**SEQ ID NO: 7**

	ccaaggacaccctgatgatcagccggacccccgaagtgacctgcgtg gtggtggatgtgtcccaggaagatcccgaggtgcagttcaattggtacgt ggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcccagagagga acagttcaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcac caggactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaa gggcctgcccagctccatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggc cagccccgcgagcctcaagtgtgtaccctgccccctagccaggaagag atgaccaagaaccaggtgtccctgagctgtgccgtgaaaggcttctacc ccagcgacattgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaa caactacaagaccacccccctgtgctggacagcgacggctcattcttc ctggtgtccaagctgaccgtggacaagagccggtggcaggaaggcaa cgtgttcagctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacacc cagaagtccctgtctctgtccctgggcaag	
Cadena ligera B (Anti–CD3 x Anti–CD28–L:)	**Anti–CD3 x Anti–CD28–L:** gacatcgtgatgacccagacccccctgagcctgagcgtgacacctgga cagcctgccagcatcagctgcaagagcagccagagcctggtgcacaa caacgccaacacctacctgagctggtatctgcagaagcccggccaga gcccccagtccctgatctacaaggtgtccaacagattcagcggcgtgcc cgacagattctccggcagcggctctggcaccgacttcaccctgaagatc agccgggtggaagccgaggacgtgggcgtgtactattgtggccagggc acccagtacccccttcacctttggcagcggcaccaaggtggaaatcaag ggccagcccaaggccgcccccgacatccagatgacccagagcccca gcagcctgtctgccagcgtgggcgacagagtgaccatcacctgtcagg ccagccagaacatctacgtgtggctgaactggtatcagcagaagcccg gcaaggcccccaagctgctgatctacaaggccagcaacctgcacacc ggcgtgcccagcagattttctggcagcggctccggcaccgacttcaccct gacaatcagctccctgcagcccgaggacattgccacctactactgccag cagggccagacctacccctacacctttggccagggcaccaagctgga aatcaagaccaagggccccagccgtacggtggccgctcccagcgtgtt catcttcccacctagcgacgagcagctgaagtccggcacagcctctgtc gtgtgcctgctgaacaacttctacccccgcgaggccaaagtgcagtgga aggtggacaacgccctgcagagcggcaacagccaggaaagcgtga ccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctgagcagcaccct gacactgagcaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgc gaagtgacccaccagggcctgtctagccccgtgaccaagagcttcaac cggggcgagtgt	**SEQ ID NO: 8**
Secuencias de aminoácidos de la proteína de unión 2		
Cadena pesada A (Anti–Her2–H_Botón)	**Anti–Her2–H_Botón:** Evqlvesggglvqpggslrlscaas***gfnikdti***ihwvrqapgkglewva r***iiptngit***riadsvkgrftisadtskntailqmnslraedtaviic***srwggd gfiamdi***wgqgtlvtvssastkgpsvfplapcsrstsestaalgclvkdif pepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglislssvvtvpssslgtktitcnvd hkpsntkvdkrveskigppcppcpapeflggpsvflfppkpkdtlmisrt pevtcvvvdvsqedpevqfnwivdgvevhnaktkpreeqfnstirvvsv ltvlhqdwlngkeikckvsnkglpssiektiskakgqprepqvitlppcqe emtknqvslwclvkgfipsdiavewesngqpennikttppvldsdgsffli skltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhitqkslslslgk	**SEQ ID NO: 1**
Cadena ligera A	**Anti–Her2–L:** Diqmtqspsslsasvgdrvtitcras***qdvnta***vawiqqkpgkapkllii***s as***flisgvpsrfsgsrsgtdftltisslqpedfatiic***qqhittppt***fgqgtkvei	**SEQ ID NO: 2**

(Anti–Her2–L)	krtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfipreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstislsstltlskadiekhkviacevtqglsspvtksfnrgec	
Cadena pesada B (Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal)	**Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal:** Qvqlqesgpglvkpsqtlsltctvsgfslsdigvhwvrqppgkglewlgviwagggtninpslksrktiskdtsknqvslklssvtaadtaviicardkgisiiismdiwgqgttvtvsssqvqlvesgggvvqpgrslrlscaasgftftkawmhwvrqapgkqlewvaqikdksnsiatiiadsvkgrftisrddskntlilqmnslraedtaviicrgviialspfdiwgqgtlvtvssrtastkgpsvfplapcsrstsestaalgclvkdifpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglislssvvtvpssslgtktitcnvdhkpsntkvdkrveskigppcppcpapeflggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwivdgvevhnaktkpreeqfnstirvvsvltvlhqdwlngkeikckvsnkglpssiektiskakgqprepqvctlppsqeemtknqvslscavkgfipsdiavewesngqpennikttppvldsdgsfflvskltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhitqkslslslgk	**SEQ ID NO: 9**
Cadena ligera B (Anti–CD3 x Anti–CD28–L)	**Anti–CD3 x Anti–CD28–L:** Divmtqtplslsvtpgqpasisckssqslvhnnantilswilqkpgqspqsliikvsnrfsgvpdrfsgsgsgtdftlkisrveaedvgviicgqgtqipftfgsgtkveikgqpkaapdivltqspaslavspgqratitcrasesveiivtslmqwiqqkpgqppkllifaasnvesgvparfsgsgsgtdftltinpveandvaniicqqsrkvpitfgqgtkleiktkgpsrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfipreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstislsstltlskadiekhkviacevtqglsspvtksfnrgec	**SEQ ID NO: 10**
Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 2		
Cadena pesada A (Anti–Her2–H_Botón:)	**Anti–Her2–H_Botón:** gaagtgcagctggtggaatctggcggcggactggtgcagcctggcggatctctgagactgagctgtgccgccagcggcttcaacatcaaggacacctacatccactgggtgcgccaggcccctggcaagggactggaatgggtggccagaatctaccccaccaacggctacaccagatacgccgacagcgtgaagggccggttcaccatcagcgccgacaccagcaagaacaccgcctacctgcagatgaacagcctgcgggccgaggacaccgccgtgtactactgtagtagatggggaggcgacggcttctacgccatggactattggggccaggcaccctcgtgaccgtgtctagtgcgtcgaccaagggcccatcggtgttccctctggcccttgcagcagaagcaccagcgaatctacagccgccctgggctgcctcgtgaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggcgctctgacaagcggcgtgcacaccttccagccgtgctccagagcagcggcctgtactctctgagcagcgtcgtgacagtgcccagcagcagcctgggcaccaagacctacacctgtaacgtggaccacaagcccagcaacaccaaggtggacaagcgggtggaatctaagtacggccctccctgccctccttgcccagcccctgaatttctgggcggaccctccgtgttcctgttccccccaaagcccaaggacaccctgatgatcagccggaccccgaagtgacctgcgtggtggtggatgtgtcccaggaagatcccgaggtgcagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcccagagaggaacagttcaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaagggcctgcccagctccatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggccagccccgcgagcctcaagtgtataccctgccccccttgccaggaagagatgaccaagaaccaggtgtccctgtggtgtctcgtgaaaggcttctaccccagcgacattgccgtggaatgggagagcaacggccagccccgagaacaactacaagaccacccccccctgtgctggacagcgacggct	**SEQ ID NO: 5**

	cattcttcctgtactccaagctgaccgtggacaagagccggtggcagga aggcaacgtgttcagctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccac tacacccagaagtccctgtctctgtccctgggcaag	
Cadena ligera A (Anti–Her2–L:)	**Anti–Her2–L:** gacatccagatgacccagagccccagcagcctgtctgccagcgtgggc gacagagtgaccatcacctgtagagccagccaggacgtgaacaccgc cgtggcctggtatcagcagaagcctggcaaggcccccaagctgctgat ctacagcgccagcttcctgtacagcggcgtgcccagcagattcagcgga agcagaagcggcaccgacttcaccctgaccatcagctccctgcagccc gaggacttcgccacctactactgccagcagcactacaccacccccccc acatttggccagggcaccaaggtggaaatcaagcgtacggtggccgct cccagcgtgttcatcttcccacctagcgacgagcagctgaagtccggca cagcctctgtcgtgtgcctgctgaacaacttctacccccgcgaggccaaa gtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagagcggcaacagccagg aaagcgtgaccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctgag cagcaccctgacactgagcaaggccgactacgagaagcacaaggtgt acgcctgcgaagtgacccaccagggcctgtctagccccgtgaccaaga gcttcaaccggggcgagtgt	**SEQ ID NO: 6**
Cadena pesada B (Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal:)	**Anti–CD28 x Anti–CD3 _Ojal:** caggtgcagctgcaggaatctggccctggcctcgtgaagcctagccag accctgagcctgacctgtaccgtgtccggcttcagcctgagcgactacgg cgtgcactgggtgcgccagccacctggaaaaggcctggaatggctggg cgtgatctgggctggcggaggcaccaactacaaccccagcctgaagtc cagaaagaccatcagcaaggacaccagcaagaaccaggtgtccctg aagctgagcagcgtgacagccgccgataccgccgtgtactactgcgcc agagacaagggctacagctactactacagcatggactactggggccag ggcaccaccgtgaccgtgtcatcctctcaggtgcagctggtggaatctgg cggcggagtggtgcagcctggcagaagcctgagactgagctgtgccgc cagcggcttcaccttcaccaaggcctggatgcactgggtgcgccaggcc cctggaaagcagctggaatgggtggcccagatcaaggacaagagca acagctacgccacctactacgccgacagcgtgaagggccggttcacca tcagccgggacgacagcaagaacaccctgtacctgcagatgaacagc ctgcgggccgaggacaccgccgtgtactactgtcggggcgtgtactatg ccctgagccccttcgattactggggccagggaaccctcgtgaccgtgtct agtcggaccgcttcgaccaagggcccatcggtgttccctctggccccttg cagcagaagcaccagcgaatctacagccgccctgggctgcctcgtgaa ggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggcgctctgac aagcggcgtgcacaccttccagccgtgctccagagcagcggcctgtac tctctgagcagcgtcgtgacagtgcccagcagcagcctgggcaccaag acctacacctgtaacgtggaccacaagcccagcaacaccaaggtgga caagcgggtggaatctaagtacggccctccctgccctccttgcccagcc cctgaatttctgggcggaccctccgtgttcctgttcccccaaagcccaag gacaccctgatgatcagccggacccccgaagtgacctgcgtggtggtg gatgtgtcccaggaagatcccgaggtgcagttcaattggtacgtggacg gcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcccagagaggaacagtt caacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggac tggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaagggcct gcccagctccatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggccagccc cgcgagcctcaagtgtgtaccctgccccctagccaggaagagatgacc aagaaccaggtgtccctgagctgtgccgtgaaaggcttctaccccagcg	**SEQ ID NO: 11**

	acattgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaacaactac aagaccacccccctgtgctggacagcgacggctcattcttcctggtgtc caagctgaccgtggacaagagccggtggcaggaaggcaacgtgttca gctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacacccagaagt ccctgtctctgtccctgggcaag	
Cadena ligera B (Anti–CD3 x Anti–CD28–L:)	**Anti–CD3 x Anti–CD28–L:** gacatcgtgatgacccagacccccctgagcctgagcgtgacacctgga cagcctgccagcatcagctgcaagagcagccagagcctggtgcacaa caacgccaacacctacctgagctggtatctgcagaagcccggccagag cccccagtccctgatctacaaggtgtccaacagattcagcggcgtgccc gacagattctccggcagcggctctggcaccgacttcaccctgaagatca gccgggtggaagccgaggacgtgggcgtgtactattgtggccagggca cccagtacccttcacctttggcagcggcaccaaggtggaaatcaagg gccagcccaaggccgcccccgacatcgtgctgacacagagccctgct agcctggccgtgtctcctggacagagggccaccatcacctgtagagcca gcgagagcgtggaatattacgtgaccagcctgatgcagtggtatcagca gaagcccggccagccccccaagctgctgattttcgccgccagcaacgt ggaaagcggcgtgccagccagattttccggcagcggctctggcaccga cttcaccctgaccatcaaccccgtggaagccaacgacgtggccaacta ctactgccagcagagccggaaggtgccctacacctttggccagggcac caagctggaaatcaagaccaagggccccagccgtacggtggccgctc ccagcgtgttcatcttcccacctagcgacgagcagctgaagtccggcac agcctctgtcgtgtgcctgctgaacaacttctacccccgcgaggccaaag tgcagtggaaggtggacaacgccctgcagagcggcaacagccagga aagcgtgaccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctgagc agcaccctgacactgagcaaggccgactacgagaagcacaaggtgta cgcctgcgaagtgacccaccagggcctgtctagccccgtgaccaagag cttcaaccggggcgagtgt	**SEQ ID NO: 12**
Secuencias de aminoácidos de la proteína de unión 3		
Cadena pesada A (Anti–CD19(B34)–H_Botón)	**Anti–CD19(B34)–H_Botón:** Qvqlvqsgaevkkpgssvkvsckasgiafssiwmnwvrqapgqgle wigqiwpgdgdtninqkfkgratltadeststaimelsslrsedtaviicarr etttvgriiiamdiwgqgttvtvssastkgpsvfplapcsrstsestaalgclv kdifpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglislssvvtvpssslgtktitc nvdhkpsntkvdkrveskigppcppcpapeflggpsvflfppkpkdtlmi srtpevtcvvvdvsqedpevqfnwivdgvevhnaktkpreeqfnstirvv svltvlhqdwlngkeikckvsnkglpssiektiskakgqprepqvitlppcq eemtknqvslwclvkgfipsdiavewesngqpennikttppvldsdgsff lisklтvdksrwqegnvfscsvmhealhnhitqkslslslgk	**SEQ ID NO: 13**
Cadena ligera A (Anti–CD19(B34)–L)	**Anti–CD19(B34)–L:** Dlvltqspaslavspgqratitckasqsvdidgdsilnwiqqkpgqppkllii dasnlvsgvparfsgsgsgtdftltinpveandtaniicqqstedpwtfgq gtkleikrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfipreakvqwkvdn alqsgnsqesvteqdskdstislsstltlskadiekhkviacevtqglsspvt ksfnrgec	**SEQ ID NO: 14**
Cadena pesada B (Anti–CD28 x Anti–	**Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal:** Qvqlvqsgaevvkpgasvkvsckas***gitftsii***ihwvrqapgqglewig s***iipgnvnt***niaqkfqgratltvdtsistaimelsrlrsddtaviic***trshigld wnfdv***wgkgttvtvsssqvqlvesgggvvqpgrslrlscaas***gftftka w***mhwvrqapgkqlewvaq***ikdksns***iatiiadsvkgrftisrddskntlil qmnslraedtaviic***rgviialspfdi***wgqgtlvtvssrtastkgpsvfpla	**SEQ ID NO: 3**

CD3–H_Ojal)	pcsrstsestaalgclvkdifpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglisl ssvvtvpssslgtktitcnvdhkpsntkvdkrveskigppcppcpapeflg gpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwivdgvevh naktkpreeqfnstirvvsvltvlhqdwlngkeikckvsnkglpssiektisk akgqprepqvctlppsqeemtknqvslscavkgfipsdiavewesngq pennikttppvldsdgsfflvskltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhit qkslslslgk	
Cadena ligera B (Anti–CD3 x Anti–CD28–L)	**Anti–CD3 x Anti–CD28–L:** Divmtqtplslsvtpgqpasisckss***qslvhnnanti***lswilqkpgqspq slii***kvs***nrfsgvpdrfsgsgsgtdftlkisrveaedvgviic***gqgtqip***ftfg sgtkveikgqpkaapdiqmtqspsslsasvgdrvtitcqas***qniivw***ln wiqqkpgkapkllii***kas***nlhtgvpsrfsgsgsgtdftltisslqpediatiic***q qgqtipit***fgqgtkleiktkgpsrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvclln nfipreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstislsstltlskadiek hkviacevtqglsspvtksfnrgec	**SEQ ID NO: 4**
Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 3		
Cadena pesada A (Anti–CD19(B34)–H_Botón)	**Anti–CD19(B34)–H_Botón:** caggtgcagctggtgcagagcggcgccgaagtgaagaagcctggca gcagcgtgaaggtgagctgcaaggccagcggctatgccttcagcagct actggatgaactgggtgaggcaggcacctggccagggcctggagtgg ataggccaaatatggcctggcgatggcgacaccaactacaaccagaa gttcaagggcagagcgaccttgaccgccgacgagagcaccagcacc gcgtacatggagctgagcagcctgaggagcgaggacaccgccgtgta ctattgcgccagaagggagaccaccaccgtgggcaggtactactacgc catggactactggggccagggaaccaccgtgaccgtgagcagcgcct cgaccaagggcccatcggtgttccctctggccccttgcagcagaagcac cagcgaatctacagccgccctgggctgcctcgtgaaggactactttcccg agcccgtgaccgtgtcctggaactctggcgctctgacaagcggcgtgca caccttccagccgtgctccagagcagcggcctgtactctctgagcagcg tcgtgacagtgcccagcagcagcctgggcaccaagacctacacctgta acgtggaccacaagcccagcaacaccaaggtggacaagcgggtgga atctaagtacggccctccctgccctccttgcccagcccctgaatttctgggc ggaccctccgtgttcctgttccccccaaagcccaaggacaccctgatgat cagccggacccccgaagtgacctgcgtggtggtggatgtgtcccagga agatcccgaggtgcagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcac aacgccaagaccaagcccagagaggaacagttcaacagcacctacc gggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggactggctgaacggcaa agagtacaagtgcaaggtgtccaacaagggcctgcccagctccatcga gaaaaccatcagcaaggccaagggccagccccgcgagcctcaagtg tataccctgccccctgccaggaagagatgaccaagaaccaggtgtccc tgtggtgtctcgtgaaaggcttctaccccagcgacattgccgtggaatggg agagcaacggccagcccgagaacaactacaagaccacccccctgt gctggacagcgacggctcattcttcctgtactccaagctgaccgtggaca agagccggtggcaggaaggcaacgtgttcagctgctccgtgatgcacg aggccctgcacaaccactacacccagaagtccctgtctctgtccctggg caag	**SEQ ID NO: 15**
Cadena ligera A (Anti–CD19(B34)–L)	**Anti–CD19(B34)–L:** gacctcgtgctgacccagagccctgcgagcctggctgtgagccctggcc agagagccaccatcacctgcaaagccagccagagcgtggactacga cggcgacagctacctcaactggtaccagcagaagcctggccagcccc ccaagctgctgatttacgatgccagcaacctggtgagcggcgtgcctgct	**SEQ ID NO: 16**

	agattcagcggctccggcagcggcaccgacttcaccctgaccatcaac cccgtggaggccaacgacaccgccaactactactgccagcagagcac ggaggacccctggaccttcggccagggcacaaagctggagatcaagc gtacggtggccgctcccagcgtgttcatcttcccacctagcgacgagcag ctgaagtccggcacagcctctgtcgtgtgcctgctgaacaacttctacccc ccgcgaggccaaagtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagagcg gcaacagccaggaaagcgtgaccgagcaggacagcaaggactcca cctacagcctgagcagcaccctgacactgagcaaggccgactacgag aagcacaaggtgtacgcctgcgaagtgacccaccagggcctgtctagc cccgtgaccaagagcttcaaccggggcgagtgt	
Cadena pesada B (Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal)	**Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal:** caggtgcagctggtgcagtctggcgccgaggtcgtgaaacctggcgcct ctgtgaaggtgtcctgcaaggccagcggctacacctttaccagctactac atccactgggtgcgccaggcccctggacagggactggaatggatcggc agcatctaccccggcaacgtgaacaccaactacgcccagaagttccag ggcagagccaccctgaccgtggacaccagcatcagcaccgcctacat ggaactgagccggctgagaagcgacgacaccgccgtgtactactgca cccggtcccactacggcctggattggaacttcgacgtgtggggcaaggg caccaccgtgacagtgtctagcagccaggtgcagctggtggaatctggc ggcggagtggtgcagcctggcagaagcctgagactgagctgtgccgcc agcggcttcaccttcaccaaggcctggatgcactgggtgcgccaggccc ctggaaagcagctggaatgggtggcccagatcaaggacaagagcaa cagctacgccacctactacgccgacagcgtgaagggccggttcaccat cagccgggacgacagcaagaacaccctgtacctgcagatgaacagc ctgcgggccgaggacaccgccgtgtactactgtcggggcgtgtactatg ccctgagccccttcgattactggggccagggaaccctcgtgaccgtgtct agtcggaccgccagcacaaagggcccatcggtgttccctctggcccctt gcagcagaagcaccagcgaatctacagccgccctgggctgcctcgtga aggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggcgctctga caagcggcgtgcacaccttccagccgtgctccagagcagcggcctgta ctctctgagcagcgtcgtgacagtgcccagcagcagcctgggcaccaa gacctacacctgtaacgtggaccacaagcccagcaacaccaaggtgg acaagcgggtggaatctaagtacggccctccctgccctccttgcccagc ccctgaatttctgggcggaccctccgtgttcctgttccccccaaagcccaa ggacaccctgatgatcagccggaccccccgaagtgacctgcgtggtggt ggatgtgtcccaggaagatcccgaggtgcagttcaattggtacgtggac ggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcccagagaggaacagt tcaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccagga ctggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaagggcc tgcccagctccatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggccagccc cgcgagcctcaagtgtgtaccctgcccccctagccaggaagagatgacc aagaaccaggtgtccctgagctgtgccgtgaaaggcttctaccccagcg acattgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaacaactac aagaccacccccccctgtgctggacagcgacggctcattcttcctggtgtc caagctgaccgtggacaagagccggtggcaggaaggcaacgtgttca gctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacacccagaagt ccctgtctctgtccctgggcaag	**SEQ ID NO: 7**
Cadena ligera B	**Anti–CD3 x Anti–CD28–L:** gacatcgtgatgacccagacccccctgagcctgagcgtgacacctgga cagcctgccagcatcagctgcaagagcagccagagcctggtgcacaa	**SEQ ID NO: 8**

(Anti–CD3 x Anti–CD28–L:)	caacgccaacacctacctgagctggtatctgcagaagcccggccagag cccccagtccctgatctacaaggtgtccaacagattcagcggcgtgccc gacagattctccggcagcggctctggcaccgacttcaccctgaagatca gccgggtggaagccgaggacgtgggcgtgtactattgtggccagggca cccagtacccttcaccttggcagcggcaccaaggtggaaatcaagg gccagcccaaggccgcccccgacatccagatgacccagagccccag cagcctgtctgccagcgtgggcgacagagtgaccatcacctgtcaggcc agccagaacatctacgtgtggctgaactggtatcagcagaagcccggc aaggcccccaagctgctgatctacaaggccagcaacctgcacaccgg cgtgcccagcagattttctggcagcggctccggcaccgacttcaccctga caatcagctccctgcagcccgaggacattgccacctactactgccagca gggccagacctacccctacaccttggccagggcaccaagctggaaat caagaccaagggccccagccgtacggtggccgctcccagcgtgttcat cttcccacctagcgacgagcagctgaagtccggcacagcctctgtcgtgt gcctgctgaacaacttctacccccgcgaggccaaagtgcagtggaagg tggacaacgccctgcagagcggcaacagccaggaaagcgtgaccga gcaggacagcaaggactccacctacagcctgagcagcaccctgacac tgagcaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgcgaagtg acccaccagggcctgtctagccccgtgaccaagagcttcaaccggggc gagtgt	
Secuencias de aminoácidos de la proteína de unión 4		
Cadena pesada A (Anti–CD19(B34)–H_Botón)	**Anti–CD19(B34)–H_Botón:** Qvqlvqsgaevkkpgssvkvsckasgiafssiwmnwvrqapgqgle wigqiwpgdgdtninqkfkgratltadeststaimelsslrsedtaviicarr etttvgriiiamdiwgqgttvtvssastkgpsvfplapcsrstsestaalgclv kdifpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglislssvvtvpssslgtktitc nvdhkpsntkvdkrveskigppcppcpapeflggpsvflfppkpkdtlmi srtpevtcvvvdvsqedpevqfnwivdgvevhnaktkpreeqfnstirvv svltvlhqdwlngkeikckvsnkglpssiektiskakgqprepqvitlppcq eemtknqvslwclvkgfipsdiavewesngqpennikttppvldsdgsff liskltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhitqkslslslgk	**SEQ ID NO: 13**
Cadena ligera A (Anti–CD19(B34)–L)	**Anti–CD19(B34)–L:** Dlvltqspaslavspgqratitckasqsvdidgdsilnwiqqkpgqppkllii dasnlvsgvparfsgsgsgtdftltinpveandtaniicqqstedpwtfgq gtkleikrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfipreakvqwkvdn alqsgnsqesvteqdskdstislsstltlskadiekhkviacevtqglsspvt ksfnrgec	**SEQ ID NO: 14**
Cadena pesada B (Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal)	**Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal:** Qvqlqesgpglvkpsqtlsltctvsgfslsdigvhwvrqppgkglewlgvi wagggtninpslksrktiskdtsknqvslklssvtaadtaviicardkgisiii smdiwgqgttvtvsssqvqlvesgggvvqpgrslrlscaasgftftkawm hwvrqapgkqlewvaqikdksnsiatiiadsvkgrftisrddskntlilqmn slraedtaviicrgviialspfdiwgqgtlvtvssrtastkgpsvfplapcsrst sestaalgclvkdifpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglislssvvtv pssslgtktitcnvdhkpsntkvdkrveskigppcppcpapeflggpsvflf ppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwivdgvevhnaktkpr eeqfnstirvvsvltvlhqdwlngkeikckvsnkglpssiektiskakgqpr epqvctlppsqeemtknqvslscavkgfipsdiavewesngqpennik ttppvldsdgsfflvskltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhitqkslslsl gk	**SEQ ID NO: 9**

Cadena ligera B (Anti–CD3 x Anti–CD28–L)	**Anti–CD3 x Anti–CD28–L:** Divmtqtplslsvtpgqpasisckssqslvhnnantilswilqkpgqspqs liikvsnrfsgvpdrfsgsgsgtdftlkisrveaedvgviicgqgtqipftfgsg tkveikgqpkaapdivltqspaslavspgqratitcrasesveiivtslmqw iqqkpgqppkllifaasnvesgvparfsgsgsgtdftltinpveandvanii cqqsrkvpitfgqgtkleiktkgpsrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcll nnfipreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstislsstltlskadie khkviacevtqglsspvtksfnrgec	**SEQ ID NO: 10**
Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 4		
Cadena pesada A (Anti–CD19(B34)–H_Botón)	**Anti–CD19(B34)–H_Botón:** caggtgcagctggtgcagagcggcgccgaagtgaagaagcctggca gcagcgtgaaggtgagctgcaaggccagcggctatgccttcagcagct actggatgaactgggtgaggcaggcacctggccagggcctggagtgg ataggccaaatatggcctggcgatggcgacaccaactacaaccagaa gttcaagggcagagcgaccttgaccgccgacgagagcaccagcacc gcgtacatggagctgagcagcctgaggagcgaggacaccgccgtgta ctattgcgccagaagggagaccaccaccgtgggcaggtactactacgc catggactactggggccagggaaccaccgtgaccgtgagcagcgcct cgaccaagggcccatcggtgttccctctggccccttgcagcagaagcac cagcgaatctacagccgccctgggctgcctcgtgaaggactactttcccg agcccgtgaccgtgtcctggaactctggcgctctgacaagcggcgtgca caccttccagccgtgctccagagcagcggcctgtactctctgagcagcg tcgtgacagtgcccagcagcagcctgggcaccaagacctacacctgta acgtggaccacaagcccagcaacaccaaggtggacaagcgggtgga atctaagtacggccctccctgccctccttgcccagcccctgaatttctgggc ggaccctccgtgttcctgttccccccaaagcccaaggacaccctgatgat cagccggacccccgaagtgacctgcgtggtggtggatgtgtcccagga agatcccgaggtgcagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcac aacgccaagaccaagcccagagaggaacagttcaacagcacctacc gggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggactggctgaacggcaa agagtacaagtgcaaggtgtccaacaagggcctgcccagctccatcga gaaaaccatcagcaaggccaagggccagccccgcgagcctcaagtg tataccctgccccctgccaggaagagatgaccaagaaccaggtgtccc tgtggtgtctcgtgaaaggcttctaccccagcgacattgccgtggaatggg agagcaacggccagcccgagaacaactacaagaccacccccctgt gctggacagcgacggctcattcttcctgtactccaagctgaccgtggaca agagccggtggcaggaaggcaacgtgttcagctgctccgtgatgcacg aggccctgcacaaccactacacccagaagtccctgtctctgtccctggg caag	**SEQ ID NO: 15**
Cadena ligera A (Anti–CD19(B34)–L)	**Anti–CD19(B34)–L:** gacctcgtgctgacccagagccctgcgagcctggctgtgagccctggcc agagagccaccatcacctgcaaagccagccagagcgtggactacga cggcgacagctacctcaactggtaccagcagaagcctggccagcccc ccaagctgctgatttacgatgccagcaacctggtgagcggcgtgcctgct agattcagcggctccggcagcggcaccgacttcaccctgaccatcaac cccgtggaggccaacgacaccgccaactactactgccagcagagcac ggaggacccctggaccttcggccagggcacaaagctggagatcaagc gtacggtggccgctcccagcgtgttcatcttcccacctagcgacgagcag ctgaagtccggcacagcctctgtcgtgtgcctgctgaacaacttctacccc cgcgaggccaaagtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagagcg gcaacagccaggaaagcgtgaccgagcaggacagcaaggactcca	**SEQ ID NO: 16**

	cctacagcctgagcagcaccctgacactgagcaaggccgactacgag aagcacaaggtgtacgcctgcgaagtgacccaccagggcctgtctagc cccgtgaccaagagcttcaaccggggcgagtgt	
Cadena pesada B (Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal:)	**Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal:** caggtgcagctgcaggaatctggccctggcctcgtgaagcctagccag accctgagcctgacctgtaccgtgtccggcttcagcctgagcgactacgg cgtgcactgggtgcgccagccacctggaaaaggcctggaatggctggg cgtgatctgggctggcggaggcaccaactacaaccccagcctgaagtc cagaaagaccatcagcaaggacaccagcaagaaccaggtgtccctg aagctgagcagcgtgacagccgccgataccgccgtgtactactgcgcc agagacaagggctacagctactactacagcatggactactggggccag ggcaccaccgtgaccgtgtcatcctctcaggtgcagctggtggaatctgg cggcggagtggtgcagcctggcagaagcctgagactgagctgtgccgc cagcggcttcaccttcaccaaggcctggatgcactgggtgcgccaggcc cctggaaagcagctggaatgggtggcccagatcaaggacaagagca acagctacgccacctactacgccgacagcgtgaagggccggttcacca tcagccgggacgacagcaagaacaccctgtacctgcagatgaacagc ctgcgggccgaggacaccgccgtgtactactgtcggggcgtgtactatg ccctgagccccttcgattactggggccagggaaccctcgtgaccgtgtct agtcggaccgcttcgaccaagggcccatcggtgttccctctggccccttg cagcagaagcaccagcgaatctacagccgccctgggctgcctcgtgaa ggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggcgctctgac aagcggcgtgcacacctttccagccgtgctccagagcagcggcctgtac tctctgagcagcgtcgtgacagtgcccagcagcagcctgggcaccaag acctacacctgtaacgtggaccacaagcccagcaacaccaaggtgga caagcgggtggaatctaagtacggccctccctgccctccttgcccagcc cctgaatttctgggcggaccctccgtgttcctgttccccccaaagcccaag gacaccctgatgatcagccggaccccccgaagtgacctgcgtggtggtg gatgtgtcccaggaagatcccgaggtgcagttcaattggtacgtggacg gcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcccagagaggaacagtt caacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggac tggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaagggcct gcccagctccatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggccagccc cgcgagcctcaagtgtgtaccctgccccctagccaggaagagatgacc aagaaccaggtgtccctgagctgtgccgtgaaaggcttctaccccagcg acattgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaacaactac aagaccacccccccctgtgctggacagcgacggctcattcttcctggtgtc caagctgaccgtggacaagagccggtggcaggaaggcaacgtgttca gctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacacccagaagt ccctgtctctgtccctgggcaag	**SEQ ID NO: 11**
Cadena ligera B (Anti–CD3 x Anti–CD28–L:)	**Anti–CD3 x Anti–CD28–L:** gacatcgtgatgacccagacccccctgagcctgagcgtgacacctgga cagcctgccagcatcagctgcaagagcagccagagcctggtgcacaa caacgccaacacctacctgagctggtatctgcagaagcccggccagag cccccagtccctgatctacaaggtgtccaacagattcagcggcgtgccc gacagattctccggcagcggctctggcaccgacttcaccctgaagatca gccgggtggaagccgaggacgtgggcgtgtactattgtggccagggca cccagtacccttcaccttggcagcggcaccaaggtggaaatcaagg gccagcccaaggccgcccccgacatcgtgctgacacagagccctgct agcctggccgtgtctcctggacagagggccaccatcacctgtagagcca	**SEQ ID NO: 12**

	gcgagagcgtggaatattacgtgaccagcctgatgcagtggtatcagca gaagcccggccagccccccaagctgctgattttcgccgccagcaacgt ggaaagcggcgtgccagccagattttccggcagcggctctggcaccga cttcaccctgaccatcaaccccgtggaagccaacgacgtggccaacta ctactgccagcagagccggaaggtgccctacacctttggccagggcac caagctggaaatcaagaccaagggccccagccgtacggtggccgctc ccagcgtgttcatcttcccacctagcgacgagcagctgaagtccggcac agcctctgtcgtgtgcctgctgaacaacttctaccccgcgaggccaaag tgcagtggaaggtggacaacgccctgcagagcggcaacagccagga aagcgtgaccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctgagc agcaccctgacactgagcaaggccgactacgagaagcacaaggtgta cgcctgcgaagtgacccaccagggcctgtctagccccgtgaccaagag cttcaaccggggcgagtgt	
Secuencias de aminoácidos de la proteína de unión 5		
Cadena pesada A (Anti–CD38–H_Botón)	**Anti–CD38–H_Botón:** Qvqlvqsgaevakpgtsvklsckasgitftdiwmqwvkqrpgqglewi gtiipgdgdtgiaqkfqgkatltadkssktvimhlsslasedsaviicargdii gsnsldiwgqgtsvtvssastkgpsvfplapcsrstsestaalgclvkdifp epvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglislssvvtvpssslgtktitcnvdh kpsntkvdkrveskigppcppcpapeflggpsvflfppkpkdtlmisrtpe vtcvvvdvsqedpevqfnwivdgvevhnaktkpreeqfnstirvvsvltvl hqdwlngkeikckvsnkglpssiektiskakgqprepqvitlppcqeemt knqvslwclvkgfipsdiavewesngqpennikttppvldsdgsfflisklt vdksrwqegnvfscsvmhealhnhitqkslslslgk	**SEQ ID NO: 17**
Cadena ligera A (Anti–CD38–L)	**Anti–CD38–L:** Divmtqshlsmstslgdpvsitckasqdvstvvawiqqkpgqsprrliis asiriigvpdrftgsgagtdftftissvqaedlaviicqqhisppitfgggtklei krtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfipreakvqwkvdnalqsg nsqesvteqdskdstislsstltlskadiekhkviacevtqglsspvtksfnr gec	**SEQ ID NO: 18**
Cadena pesada B (Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal)	**Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal:** Qvqlvqsgaevvkpgasvkvsckas***gitftsii***ihwvrqapgqglewig s***iipgnvnt***niaqkfqgratltvdtsistaimelsrlrsddtaviic***trshigld wnfdv***wgkgttvtvsssqvqlvesgggvvqpgrslrlscaas***gftftka w***mhwvrqapgkqlewvaq***ikdksns***iatiiadsvkgrftisrddsknti lqmnslraedtaviic***rgviialspfdi***wgqgtlvtvssrtastkgpsvfpla pcsrstsestaalgclvkdifpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglisl ssvvtvpssslgtktitcnvdhkpsntkvdkrveskigppcppcpapeflg gpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwivdgvevh naktkpreeqfnstirvvsvltvlhqdwlngkeikckvsnkglpssiektisk akgqprepqvctlppsqeemtknqvslscavkgfipsdiavewesngq pennikttppvldsdgsfflvskltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhit qkslslslgk	**SEQ ID NO: 3**
Cadena ligera B (Anti–CD3 x Anti–CD28–L)	**Anti–CD3 x Anti–CD28–L:** Divmtqtplslsvtpgqpasiscks***qslvhnnanti***lswilqkpgqspq slii***kvs***nrfsgvpdrfsgsgsgtdftlkisrveaedvgviic***gqgtqip***ftfg sgtkveikgqpkaapdiqmtqspsslsasvgdrvtitcqas***qniivw***ln wiqqkpgkapkllii***kas***nlhtgvpsrfsgsgsgtdftltisslqpediatiic***q qgqtipit***fgqgtkleiktkgpsrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvclln nfipreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstislsstltlskadiek hkviacevtqglsspvtksfnrgec	**SEQ ID NO: 4**

Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 5		
Cadena pesada A (Anti–CD38–H_Botón)	**Anti–CD38–H_Botón:** caggtgcagctggtgcagtctggcgccgaagtggccaagcctggcaca agcgtgaagctgagctgcaaggccagcggctacaccttcaccgactac tggatgcagtgggtcaagcagaggccaggccagggcctggaatggat cggcacaatctatcccggcgacggcgataccggctacgcccagaagtt tcagggcaaggccaccctgaccgccgacaagagcagcaagaccgtg tacatgcacctgagcagcctggccagcgaggacagcgccgtgtactatt gcgccagaggcgactactacggcagcaacagcctggactattggggc cagggcaccagcgtgacagtgtctagtgcgtcgaccaagggcccatcg gtgttccctctggccccttgcagcagaagcaccagcgaatctacagccg ccctgggctgcctcgtgaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcct ggaactctggcgctctgacaagcggcgtgcacacctttccagccgtgctc cagagcagcggcctgtactctctgagcagcgtcgtgacagtgcccagc agcagcctgggcaccaagacctacacctgtaacgtggaccacaagcc cagcaacaccaaggtggacaagcgggtggaatctaagtacggccctc cctgccctccttgcccagcccctgaatttctgggcggaccctccgtgttcct gttccccccaaagcccaaggacaccctgatgatcagccggacccccg aagtgacctgcgtggtggtggatgtgtcccaggaagatcccgaggtgca gttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaa gcccagagaggaacagttcaacagcacctaccgggtggtgtccgtgct gaccgtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtacaagtgca aggtgtccaacaagggcctgcccagctccatcgagaaaaccatcagc aaggccaagggccagccccgcgagcctcaagtgtataccctgccccct tgccaggaagagatgaccaagaaccaggtgtccctgtggtgtctcgtga aaggcttctaccccagcgacattgccgtggaatgggagagcaacggcc agcccgagaacaactacaagaccacccccccctgtgctggacagcgac ggctcattcttcctgtactccaagctgaccgtggacaagagccggtggca ggaaggcaacgtgttcagctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaa ccactacacccagaagtccctgtctctgtccctgggcaag	**SEQ ID NO: 19**
Cadena ligera A (Anti–CD38–L)	**Anti–CD38–L:** gacatcgtgatgacccagagccacctgagcatgagcaccagcctggg cgaccccgtgtccatcacctgtaaagccagccaggacgtgtccaccgtg gtggcctggtatcagcagaagcctggccagagccccagacggctgatc tacagcgccagctatcggtacatcggcgtgcccgacagattcaccgga agcggagccggcaccgacttcaccttcaccatcagctctgtgcaggccg aggacctggccgtgtactactgccagcagcactacagccccccctaca cctttggcggaggcaccaagctggaaatcaagcgtacggtggccgctc ccagcgtgttcatcttcccacctagcgacgagcagctgaagtccggcac agcctctgtcgtgtgcctgctgaacaacttctacccccgcgaggccaaag tgcagtggaaggtggacaacgccctgcagagcggcaacagccagga aagcgtgaccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctgagc agcaccctgacactgagcaaggccgactacgagaagcacaaggtgta cgcctgcgaagtgacccaccagggcctgtctagccccgtgaccaagag cttcaaccggggcgagtgt	**SEQ ID NO: 20**
Cadena pesada B (Anti–CD28 x Anti–	**Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal:** caggtgcagctggtgcagtctggcgccgaggtcgtgaaacctggcgcct ctgtgaaggtgtcctgcaaggccagcggctacacctttaccagctactac atccactgggtgcgccaggcccctggacagggactggaatggatcggc agcatctaccccggcaacgtgaacaccaactacgcccagaagttccag	**SEQ ID NO: 7**

CD3–H_OjaI)	ggcagagccaccctgaccgtggacaccagcatcagcaccgcctacat ggaactgagccggctgagaagcgacgacaccgccgtgtactactgca cccggtcccactacggcctggattggaacttcgacgtgtggggcaaggg caccaccgtgacagtgtctagcagccaggtgcagctggtggaatctggc ggcggagtggtgcagcctggcagaagcctgagactgagctgtgccgcc agcggcttcaccttcaccaaggcctggatgcactgggtgcgccaggccc ctggaaagcagctggaatgggtggcccagatcaaggacaagagcaa cagctacgccacctactacgccgacagcgtgaagggccggttcaccat cagccgggacgacagcaagaacaccctgtacctgcagatgaacagc ctgcgggccgaggacaccgccgtgtactactgtcggggcgtgtactatg ccctgagccccttcgattactggggccagggaaccctcgtgaccgtgtct agtcggaccgccagcacaaagggcccatcggtgttccctctggccccctt gcagcagaagcaccagcgaatctacagccgccctgggctgcctcgtg aaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggcgctct gacaagcggcgtgcacaccttccagccgtgctccagagcagcggcct gtactctctgagcagcgtcgtgacagtgcccagcagcagcctgggcac caagacctacacctgtaacgtggaccacaagcccagcaacaccaag gtggacaagcgggtggaatctaagtacggccctccctgccctccttgccc agcccctgaatttctgggcggaccctccgtgttcctgttcccccaaagcc caaggacaccctgatgatcagccggacccccgaagtgacctgcgtggt ggtggatgtgtcccaggaagatcccgaggtgcagttcaattggtacgtgg acggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcccagagaggaac agttcaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcacca ggactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaagg gcctgcccagctccatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggcca gccccgcgagcctcaagtgtgtaccctgccccctagccaggaagagat gaccaagaaccaggtgtccctgagctgtgccgtgaaaggcttctacccc agcgacattgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaaca actacaagaccacccccccctgtgctggacagcgacggctcattcttcctg gtgtccaagctgaccgtggacaagagccggtggcaggaaggcaacgt gttcagctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacacccag aagtccctgtctctgtccctgggcaag	
Cadena ligera B (Anti–CD3 x Anti–CD28–L:)	**Anti–CD3 x Anti–CD28–L:** gacatcgtgatgacccagacccccctgagcctgagcgtgacacctgga cagcctgccagcatcagctgcaagagcagccagagcctggtgcacaa caacgccaacacctacctgagctggtatctgcagaagcccggccaga gcccccagtccctgatctacaaggtgtccaacagattcagcggcgtgcc cgacagattctccggcagcggctctggcaccgacttcaccctgaagatc agccgggtggaagccgaggacgtgggcgtgtactattgtggccagggc acccagtacccccttcaccttttggcagcggcaccaaggtggaaatcaag ggccagcccaaggccgcccccgacatccagatgacccagagccccca gcagcctgtctgccagcgtgggcgacagagtgaccatcacctgtcagg ccagccagaacatctacgtgtggctgaactggtatcagcagaagcccg gcaaggcccccaagctgctgatctacaaggccagcaacctgcacacc ggcgtgcccagcagattttctggcagcggctccggcaccgacttcaccct gacaatcagctccctgcagcccgaggacattgccacctactactgccag cagggccagacctacccctacacctttggccagggcaccaagctggaa atcaagaccaagggccccagccgtacggtggccgctcccagcgtgttc atcttcccacctagcgacgagcagctgaagtccggcacagcctctgtcgt gtgcctgctgaacaacttctacccccgcgaggccaaagtgcagtggaa ggtggacaacgccctgcagagcggcaacagccaggaaagcgtgacc	**SEQ ID NO: 8**

	gagcaggacagcaaggactccacctacagcctgagcagcaccctga cactgagcaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgcgaa gtgacccaccagggcctgtctagccccgtgaccaagagcttcaaccgg ggcgagtgt	
Secuencias de aminoácidos de la proteína de unión 6		
Cadena pesada A (Anti–CD38–H_Botón)	**Anti–CD38–H_Botón:** qvqlvqsgaevakpgtsvklsckasgitftdiwmqwvkqrpgqglewig tiipgdgdtgiaqkfqgkatltadkssktvimhlsslasedsaviicargdiig snsldiwgqgtsvtvssastkgpsvfplapcsrstsestaalgclvkdifpe pvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglislssvvtvpssslgtktitcnvdhk psntkvdkrveskigppcppcpapeflggpsvflfppkpkdtlmisrtpev tcvvvdvsqedpevqfnwivdgvevhnaktkpreeqfnstirvvsvltvl hqdwlngkeikckvsnkglpssiektiskakgqprepqvitlppcqeemt knqvslwclvkgfipsdiavewesngqpennikttppvldsdgsfflisklt vdksrwqegnvfscsvmhealhnhitqkslslslgk	**SEQ ID NO: 17**
Cadena ligera A (Anti–CD38–L)	**Anti–CD38–L:** Divmtqshlsmstslgdpvsitckasqdvstvvawiqqkpgqsprrliis asiriigvpdrftgsgagtdftftissvqaedlaviicqqhisppitfgggtklei krtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfipreakvqwkvdnalqsg nsqesvteqdskdstislsstltlskadiekhkviacevtqglsspvtksfnr gec	**SEQ ID NO: 18**
Cadena pesada B (Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal)	**Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal:** Qvqlqesgpglvkpsqtlsltctvsgfslsdigvhwvrqppgkglewlgvi wagggtninpslksrktiskdtsknqvslklssvtaadtaviicardkgisiii smdiwgqgttvtvsssqvqlvesgggvvqpgrslrlscaasgftftkaw mhwvrqapgkqlewvaqikdksnsiatiiadsvkgrftisrddskntlilq mnslraedtaviicrgviialspfdiwgqgtlvtvssrtastkgpsvfplapcs rstsestaalgclvkdifpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglislssv vtvpssslgtktitcnvdhkpsntkvdkrveskigppcppcpapeflggp svflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwivdgvevhna ktkpreeqfnstirvvsvltvlhqdwlngkeikckvsnkglpssiektiskak gqprepqvctlppsqeemtknqvslscavkgfipsdiavewesngqpe nnikttppvldsdgsfflvskltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhitqk slslslgk	**SEQ ID NO: 9**
Cadena ligera B (Anti–CD3 x Anti–CD28–L)	**Anti–CD3 x Anti–CD28–L:** Divmtqtplslsvtpgqpasisckssqslvhnnantilswilqkpgqspqs liikvsnrfsgvpdrfsgsgsgtdftlkisrveaedvgviicgqgtqipftfgsg tkveikgqpkaapdivltqspaslavspgqratitcrasesveiivtslmqw iqqkpgqppkllifaasnvesgvparfsgsgsgtdftltinpveandvanii cqqsrkvpitfgqgtkleiktkgpsrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcll nnfipreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstislsstltlskadie khkviacevtqglsspvtksfnrgec	**SEQ ID NO: 10**
Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 6		
Cadena pesada A (Anti–CD38–H_Botón)	**Anti–CD38–H_Botón:** caggtgcagctggtgcagtctggcgccgaagtggccaagcctggcaca agcgtgaagctgagctgcaaggccagcggctacaccttcaccgactac tggatgcagtgggtcaagcagaggccaggccagggcctggaatggat cggcacaatctatcccggcgacggcgataccggctacgcccagaagtt tcagggcaaggccaccctgaccgccgacaagagcagcaagaccgtg tacatgcacctgagcagcctggccagcgaggacagcgccgtgtactatt	**SEQ ID NO: 19**

	gcgccagaggcgactactacggcagcaacagcctggactattggggc cagggcaccagcgtgacagtgtctagtgcgtcgaccaagggcccatcg gtgttccctctggccccttgcagcagaagcaccagcgaatctacagccg ccctgggctgcctcgtgaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcct ggaactctggcgctctgacaagcggcgtgcacacctttccagccgtgctc cagagcagcggcctgtactctctgagcagcgtcgtgacagtgcccagc agcagcctgggcaccaagacctacacctgtaacgtggaccacaagcc cagcaacaccaaggtggacaagcgggtggaatctaagtacggccctc cctgccctccttgcccagcccctgaatttctgggcggaccctccgtgttcct gttcccccaaagcccaaggacaccctgatgatcagccggaccccg aagtgacctgcgtggtggtggatgtgtcccaggaagatcccgaggtgca gttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaa gcccagagaggaacagttcaacagcacctaccgggtggtgtccgtgct gaccgtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtacaagtgca aggtgtccaacaagggcctgcccagctccatcgagaaaaccatcagc aaggccaagggccagccccgcgagcctcaagtgtataccctgccccct tgccaggaagagatgaccaagaaccaggtgtccctgtggtgtctcgtga aaggcttctaccccagcgacattgccgtggaatgggagagcaacggcc agcccgagaacaactacaagaccacccccctgtgctggacagcgac ggctcattcttcctgtactccaagctgaccgtggacaagagccggtggca ggaaggcaacgtgttcagctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaa ccactacacccagaagtccctgtctctgtccctgggcaag	
Cadena ligera A (Anti–CD38–L)	**Anti–CD38–L:** gacatcgtgatgacccagagccacctgagcatgagcaccagcctggg cgaccccgtgtccatcacctgtaaagccagccaggacgtgtccaccgtg gtggcctggtatcagcagaagcctggccagagccccagacggctgatc tacagcgccagctatcggtacatcggcgtgcccgacagattcaccgga agcggagccggcaccgacttcaccttcaccatcagctctgtgcaggccg aggacctggccgtgtactactgccagcagcactacagccccccctaca cctttggcggaggcaccaagctggaaatcaagcgtacggtggccgctc ccagcgtgttcatcttcccacctagcgacgagcagctgaagtccggcac agcctctgtcgtgtgcctgctgaacaacttctacccccgcgaggccaaag tgcagtggaaggtggacaacgccctgcagagcggcaacagccagga aagcgtgaccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctgagc agcaccctgacactgagcaaggccgactacgagaagcacaaggtgta cgcctgcgaagtgacccaccagggcctgtctagccccgtgaccaagag cttcaaccggggcgagtgt	**SEQ ID NO: 20**
Cadena pesada B (Anti–CD28 x Anti–CD3–H_OjaI:)	**Anti–CD28 x Anti–CD3_OjaI:** caggtgcagctgcaggaatctggccctggcctcgtgaagcctagccag accctgagcctgacctgtaccgtgtccggcttcagcctgagcgactacgg cgtgcactgggtgcgccagccacctggaaaaggcctggaatggctggg cgtgatctgggctggcggaggcaccaactacaaccccagcctgaagtc cagaaagaccatcagcaaggacaccagcaagaaccaggtgtccctg aagctgagcagcgtgacagccgccgataccgccgtgtactactgcgcc agagacaagggctacagctactactacagcatggactactggggcca gggcaccaccgtgaccgtgtcatcctctcaggtgcagctggtggaatctg gcggcggagtggtgcagcctggcagaagcctgagactgagctgtgcc gccagcggcttcaccttcaccaaggcctggatgcactgggtgcgccag gcccctggaaagcagctggaatgggtggcccagatcaaggacaaga gcaacagctacgccacctactacgccgacagcgtgaagggccggttc	**SEQ ID NO: 11**

	accatcagccgggacgacagcaagaacaccctgtacctgcagatgaa cagcctgcgggccgaggacaccgccgtgtactactgtcggggcgtgta ctatgccctgagccccttcgattactggggccagggaaccctcgtgaccg tgtctagtcggaccgcttcgaccaagggcccatcggtgttccctctggccc cttgcagcagaagcaccagcgaatctacagccgccctgggctgcctcgt gaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggcgctc tgacaagcggcgtgcacaccttccagccgtgctccagagcagcggcct gtactctctgagcagcgtcgtgacagtgcccagcagcagcctgggcac caagacctacacctgtaacgtggaccacaagcccagcaacaccaag gtggacaagcgggtggaatctaagtacggccctccctgccctccttgccc agcccctgaatttctgggcggaccctccgtgttcctgttcccccaaagcc caaggacaccctgatgatcagccggaccccgaagtgacctgcgtggt ggtggatgtgtcccaggaagatcccgaggtgcagttcaattggtacgtgg acggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcccagagaggaac agttcaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcacca ggactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaagg gcctgcccagctccatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggcca gccccgcgagcctcaagtgtgtaccctgccccctagccaggaagagat gaccaagaaccaggtgtccctgagctgtgccgtgaaaggcttctacccc agcgacattgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaaca actacaagaccacccccccctgtgctggacagcgacggctcattcttcctg gtgtccaagctgaccgtggacaagagccggtggcaggaaggcaacgt gttcagctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacacccag aagtccctgtctctgtccctgggcaag	
Cadena ligera B (Anti–CD3 x Anti–CD28–L:)	**Anti–CD3 x Anti–CD28–L:** gacatcgtgatgacccagacccccctgagcctgagcgtgacacctgga cagcctgccagcatcagctgcaagagcagccagagcctggtgcacaa caacgccaacacctacctgagctggtatctgcagaagcccggccaga gcccccagtccctgatctacaaggtgtccaacagattcagcggcgtgcc cgacagattctccggcagcggctctggcaccgacttcaccctgaagatc agccgggtggaagccgaggacgtgggcgtgtactattgtggccagggc acccagtacccccttcacctttggcagcggcaccaaggtggaaatcaag ggccagcccaaggccgcccccgacatcgtgctgacacagagccctgc tagcctggccgtgtctcctggacagagggccaccatcacctgtagagcc agcgagagcgtggaatattacgtgaccagcctgatgcagtggtatcagc agaagcccggccagccccccaagctgctgattttcgccgccagcaacg tggaaagcggcgtgccagccagattttccggcagcggctctggcaccg acttcaccctgaccatcaaccccgtggaagccaacgacgtggccaact actactgccagcagagccggaaggtgccctacacctttggccagggca ccaagctggaaatcaagaccaagggccccagccgtacggtggccgct cccagcgtgttcatcttcccacctagcgacgagcagctgaagtccggca cagcctctgtcgtgtgcctgctgaacaacttctacccccgcgaggccaaa gtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagagcggcaacagccagg aaagcgtgaccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctgag cagcaccctgacactgagcaaggccgactacgagaagcacaaggtgt acgcctgcgaagtgacccaccagggcctgtctagccccgtgaccaaga gcttcaaccggggcgagtgt	**SEQ ID NO: 12**
Secuencias de aminoácidos de la proteína de unión 7		
Cadena pesada A	**Anti–LAMP1–H_Botón:** qvqlvqsgaevkkpgssvkvsckasgiiftninihwvkkspgqglewig aiipgngdapisqkfqgkatltadtststtimelsslrsedtaviicvranwd	**SEQ ID NO: 21**

(Anti–LAMP1–H_Botón)	vafaiwgqgtlvtvssastkgpsvfplapcsrstsestaalgclvkdifpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglislssvvtvpssslgtktitcnvdhkpsntkvdkrveskigppcppcpapeflggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwivdgvevhnaktkpreeqfnstirvvsvltvlhqdwlngkeikckvsnkglpssiektiskakgqprepqvitlppcqeemtknqvslwclvkgfipsdiavewesngqpennikttppvldsdgsffliskltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhitqkslslslgk	
Cadena ligera A (Anti–LAMP1–L)	**Anti–LAMP1–L:** Diqmtqspsslsasvgdrvtitckasqdidrimawiqdkpgkaprllihdtstlqsgvpsrfsgsgsgrditltisnlepedfatiiclqidnlwtfgggtkveikrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfipreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstislsstltlskadiekhkviacevtqglsspvtksfnrgec	**SEQ ID NO: 22**
Cadena pesada B (Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal)	**Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal:** Qvqlvqsgaevvkpgasvkvsckas***gitftsii***ihwvrqapgqglewigs***iipgnvnt***niaqkfqgratltvdtsistaimelsrlrsddtaviic***trshigldwnfdv***wgkgttvtvsssqvqlvesgggvvqpgrslrlscaas***gftftkaw***mhwvrqapgkqlewvaq***ikdksns***iatiiadsvkgrftisrddsknllilqmnslraedtaviic***rgviialspfdi***wgqgtlvtvssrtastkgpsvfplapcsrstsestaalgclvkdifpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglislssvvtvpssslgtktitcnvdhkpsntkvdkrveskigppcppcpapeflggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwivdgvevhnaktkpreeqfnstirvvsvltvlhqdwlngkeikckvsnkglpssiektiskakgqprepqvctlppsqeemtknqvslscavkgfipsdiavewesngqpennikttppvldsdgsfflvskltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhitqkslslslgk	**SEQ ID NO: 3**
Cadena ligera B (Anti–CD3 x Anti–CD28L)	**Anti–CD3 x Anti–CD28–L:** Divmtqtplslsvtpgqpasisckss***qslvhhnanti***lswilqkpgqspqslii***kvs***nrfsgvpdrfsgsgsgtdftlkisrveaedvgviic***gqgtqip***ftfgsgtkveikgqpkaapdiqmtqspsslsasvgdrvtitcqas***qniivw***lnwiqqkpgkapkllii***kas***nlhtgvpsrfsgsgsgtdftltisslqpediatiic***qqgqtipit***fgqgtkleiktkgpsrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvclln nfipreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstislsstltlskadiekhkviacevtqglsspvtksfnrgec	**SEQ ID NO: 4**
Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 7		
Cadena pesada A (Anti–LAMP1–H_Botón)	**Anti–LAMP1–H_Botón:** caggtgcagctggtgcagtctggcgccgaagtgaagaaacccggcagcagcgtgaaggtgtcctgcaaggccagcggctacatcttcaccaactacaacatccactgggtcaagaagtccccaggccagggcctggaatggatcggcgccatctatcccggaaacggcgacgcccccttacagccagaagttccagggcaaggccaccctgaccgccgataccagcacctccaccacctacatggaactgagcagcctgcggagcgaggacaccgccgtgtactattgcgtgcgggccaactgggatgtggccttcgcctattggggccagggcacactcgtgaccgtgtcctctgcgtcgaccaagggcccatcggtgttccctctggcccccttgcagcagaagcaccagcgaatctacagccgccctgggctgcctcgtgaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggcgctctgacaagcggcgtgcacacctttccagccgtgctccagagcagcggcctgtactctctgagcagcgtcgtgacagtgcccagcagcagcctgggcaccaagacctacacctgtaacgtggaccacaagcccagcaacaccaaggtggacaagcgggtggaatctaagtacggccctccctgccctccttgcccagcccctgaatttctgggcggaccctccgtgttcctgttccccccaaa	**SEQ ID NO: 23**

	gcccaaggacaccctgatgatcagccggacccccgaagtgacctgcgt ggtggtggatgtgtcccaggaagatcccgaggtgcagttcaattggtacg tggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcccagagagga acagttcaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcacc aggactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaag ggcctgcccagctccatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggcca gccccgcgagcctcaagtgtataccctgccccttgccaggaagagatg accaagaaccaggtgtccctgtggtgtctcgtgaaaggcttctaccccag cgacattgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaacaact acaagaccacccccctgtgctggacagcgacggctcattcttcctgtac tccaagctgaccgtggacaagagccggtggcaggaaggcaacgtgttc agctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacacccagaag tccctgtctctgtccctgggcaag	
Cadena ligera A (Anti–LAMP1–L)	**Anti–LAMP1–L:** gacatccagatgacccagagccccagcagcctgtctgccagcgtgggc gacagagtgaccatcacatgcaaggccagccaggacatcgatcggta catggcctggtatcaggacaagcccggcaaggcccccagactgctgat ccacgataccagcacactgcagagcggcgtgcccagcagattttccgg ctctggcagcggcagagactacaccctgaccatcagcaacctggaacc cgaggacttcgccacctactactgcctgcagtacgacaacctgtggacct tcggcggaggcaccaaggtggaaatcaagcgtacggtggccgctccc agcgtgttcatcttcccacctagcgacgagcagctgaagtccggcacag cctctgtcgtgtgcctgctgaacaacttctacccccgcgaggccaaagtg cagtggaaggtggacaacgccctgcagagcggcaacagccaggaaa gcgtgaccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctgagcag caccctgacactgagcaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacg cctgcgaagtgacccaccagggcctgtctagccccgtgaccaagagctt caaccggggcgagtgt	**SEQ ID NO: 24**
Cadena pesada B(Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal)	**Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal:** caggtgcagctggtgcagtctggcgccgaggtcgtgaaacctggcgcct ctgtgaaggtgtcctgcaaggccagcggctacacctttaccagctactac atccactgggtgcgccaggcccctggacagggactggaatggatcggc agcatctaccccggcaacgtgaacaccaactacgcccagaagttccag ggcagagccaccctgaccgtggacaccagcatcagcaccgcctacat ggaactgagccggctgagaagcgacgacaccgccgtgtactactgca cccggtcccactacggcctggattggaacttcgacgtgtggggcaaggg caccaccgtgacagtgtctagcagccaggtgcagctggtggaatctggc ggcggagtggtgcagcctggcagaagcctgagactgagctgtgccgcc agcggcttcaccttcaccaaggcctggatgcactgggtgcgccaggccc ctggaaagcagctggaatgggtggcccagatcaaggacaagagcaa cagctacgccacctactacgccgacagcgtgaagggccggttcaccat cagccgggacgacagcaagaacaccctgtacctgcagatgaacagc ctgcgggccgaggacaccgccgtgtactactgtcggggcgtgtactatg ccctgagcccttcgattactggggccagggaaccctcgtgaccgtgtct agtcggaccgccagcacaaagggcccatcggtgttccctctggcccctt gcagcagaagcaccagcgaatctacagccgccctgggctgcctcgtga aggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggcgctctga caagcggcgtgcacaccttccagccgtgctccagagcagcggcctgta ctctctgagcagcgtcgtgacagtgcccagcagcagcctgggcaccaa gacctacacctgtaacgtggaccacaagcccagcaacaccaaggtgg	**SEQ ID NO: 7**

	acaagcgggtggaatctaagtacggccctccctgccctccttgcccagc ccctgaatttctgggcggaccctccgtgttcctgttccccccaaagcccaa ggacaccctgatgatcagccggacccccgaagtgacctgcgtggtggt ggatgtgtcccaggaagatcccgaggtgcagttcaattggtacgtggac ggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcccagagaggaacagt tcaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccagga ctggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaagggcc tgcccagctccatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggccagccc cgcgagcctcaagtgtgtaccctgccccctagccaggaagagatgacc aagaaccaggtgtccctgagctgtgccgtgaaaggcttctaccccagcg acattgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaacaactac aagaccacccccccctgtgctggacagcgacggctcattcttcctggtgtc caagctgaccgtggacaagagccggtggcaggaaggcaacgtgttca gctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacacccagaagt ccctgtctctgtccctgggcaag	
Cadena ligera B (Anti–CD3 x Anti–CD28–L:)	**Anti–CD3 x Anti–CD28–L:** gacatcgtgatgacccagaccccctgagcctgagcgtgacacctgga cagcctgccagcatcagctgcaagagcagccagagcctggtgcacaa caacgccaacacctacctgagctggtatctgcagaagcccggccagag cccccagtccctgatctacaaggtgtccaacagattcagcggcgtgccc gacagattctccggcagcggctctggcaccgacttcaccctgaagatca gccgggtggaagccgaggacgtgggcgtgtactattgtggccagggca cccagtacccttcacctttggcagcggcaccaaggtggaaatcaagg gccagcccaaggccgcccccgacatccagatgacccagagccccag cagcctgtctgccagcgtgggcgacagagtgaccatcacctgtcaggcc agccagaacatctacgtgtggctgaactggtatcagcagaagcccggc aaggcccccaagctgctgatctacaaggccagcaacctgcacaccgg cgtgcccagcagattttctggcagcggctccggcaccgacttcaccctga caatcagctccctgcagcccgaggacattgccacctactactgccagca gggccagacctacccctacacctttggccagggcaccaagctggaaat caagaccaagggccccagccgtacggtggccgctcccagcgtgttcat cttcccacctagcgacgagcagctgaagtccggcacagcctctgtcgtgt gcctgctgaacaacttctacccccgcgaggccaaagtgcagtggaagg tggacaacgccctgcagagcggcaacagccaggaaagcgtgaccga gcaggacagcaaggactccacctacagcctgagcagcaccctgacac tgagcaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgcgaagtg acccaccagggcctgtctagccccgtgaccaagagcttcaaccggggc gagtgt	**SEQ ID NO: 8**
Secuencias de aminoácidos de la proteína de unión 8		
Cadena pesada A (Anti–LAMP1–H_Botón)	**Anti–LAMP1–H_Botón:** qvqlvqsgaevkkpgssvkvsckasgiiftninihwvkkspgqglewig aiipgngdapisqkfqgkatltadtststtimelsslrsedtaviicvranwd vafaiwgqgtlvtvssastkgpsvfplapcsrstsestaalgclvkdifpep vtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglislssvvtvpssslgtktitcnvdhkp sntkvdkrveskigppcppcpapeflggpsvflfppkpkdtlmisrtpevt cvvvdvsqedpevqfnwivdgvevhnaktkpreeqfnstirvvsvltvlh qdwlngkeikckvsnkglpssiektiskakgqprepqvitlppcqeemtk nqvslwclvkgfipsdiavewesngqpennikttppvldsdgsfflskltv dksrwqegnvfscsvmhealhnhitqkslslslgk	**SEQ ID NO: 21**

Cadena ligera A (Anti–LAMP1–L)	**Anti–LAMP1–L:** Diqmtqspsslsasvgdrvtitckasqdidrimawiqdkpgkaprllihdt stlqsgvpsrfsgsgsgrditltisnlepedfatiiclqidnlwtfgggtkveikrt vaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfipreakvqwkvdnalqsgns qesvteqdskdstislsstltlskadiekhkviacevtqglsspvtksfnrge c	**SEQ ID NO: 22**
Cadena pesada B (Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal)	**Anti–CD28 x Anti–CD3–H_Ojal:** Qvqlqesgpglvkpsqtlsltctvsgfslsdigvhwvrqppgkglewlgvi wagggtninpslksrktiskdtsknqvslklssvtaadtaviicardkgisiii smdiwgqgttvtvsssqvqlvesgggvvqpgrslrlscaasgftftkawm hwvrqapgkqlewvaqikdksnsiatiiadsvkgrftisrddskntlilqmn slraedtaviicrgviialspfdiwgqgtlvtvssrtastkgpsvfplapcsrst sestaalgclvkdifpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglislssvvtv pssslgtktitcnvdhkpsntkvdkrveskigppcppcpapeflggpsvflf ppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwivdgvevhnaktkpr eeqfnstirvvsvltvlhqdwlngkeikckvsnkglpssiektiskakgqpr epqvctlppsqeemtknqvslscavkgfipsdiavewesngqpennik ttppvldsdgsfflvskltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhitqkslslsl gk	**SEQ ID NO: 9**
Cadena ligera B (Anti–CD3 x Anti–CD28–L)	**Anti–CD3 x Anti–CD28–L:** Divmtqtplslsvtpgqpasisckssqslvhnnantilswilqkpgqspqs liikvsnrfsgvpdrfsgsgsgtdftlkisrveaedvgviicgqgtqipftfgsg tkveikgqpkaapdivltqspaslavspgqratitcrasesveiivtslmqw iqqkpgqppkllifaasnvesgvparfsgsgsgtdftltinpveandvanii cqqsrkvpitfgqgtkleiktkgpsrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcll nnfipreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstislsstltlskadie khkviacevtqglsspvtksfnrgec	**SEQ ID NO: 10**
Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 8		
Cadena pesada A (Anti–LAMP1–H_Botón)	**Anti–LAMP1–H_Botón:** caggtgcagctggtgcagtctggcgccgaagtgaagaaacccggcag cagcgtgaaggtgtcctgcaaggccagcggctacatcttcaccaactac aacatccactgggtcaagaagtccccaggccagggcctggaatggatc ggcgccatctatcccggaaacggcgacgcccttacagccagaagttc cagggcaaggccaccctgaccgccgataccagcacctccaccaccta catggaactgagcagcctgcggagcgaggacaccgccgtgtactattg cgtgcgggccaactgggatgtggccttcgcctattggggccagggcaca ctcgtgaccgtgtcctctgcgtcgaccaagggcccatcggtgttccctctg gcccccttgcagcagaagcaccagcgaatctacagccgccctgggctgc ctcgtgaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggc gctctgacaagcggcgtgcacaccctttccagccgtgctccagagcagcg gcctgtactctctgagcagcgtcgtgacagtgcccagcagcagcctggg caccaagacctacacctgtaacgtggaccacaagcccagcaacacca aggtggacaagcgggtggaatctaagtacggccctccctgccctccttg cccagcccctgaatttctgggcggaccctccgtgttcctgttcccccaaa gcccaaggacaccctgatgatcagccggacccccgaagtgacctgcgt ggtggtggatgtgtcccaggaagatcccgaggtgcagttcaattggtacg tggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcccagagagga acagttcaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcacc aggactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaag ggcctgcccagctccatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggcca gccccgcgagcctcaagtgtataccctgccccttgccaggaagagatg	**SEQ ID NO: 23**

	accaagaaccaggtgtccctgtggtgtctcgtgaaaggcttctaccccag cgacattgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaacaact acaagaccacccccctgtgctggacagcgacggctcattcttcctgtac tccaagctgaccgtggacaagagccggtggcaggaaggcaacgtgttc agctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacacccagaag tccctgtctctgtccctgggcaag	
Cadena ligera A (Anti–LAMP1–L)	**Anti–LAMP1–L:** gacatccagatgacccagagccccagcagcctgtctgccagcgtgggc gacagagtgaccatcacatgcaaggccagccaggacatcgatcggta catggcctggtatcaggacaagcccggcaaggcccccagactgctgat ccacgataccagcacactgcagagcggcgtgcccagcagattttccgg ctctggcagcggcagagactacaccctgaccatcagcaacctggaacc cgaggacttcgccacctactactgcctgcagtacgacaacctgtggacct tcggcggaggcaccaaggtggaaatcaagcgtacggtggccgctccc agcgtgttcatcttcccacctagcgacgagcagctgaagtccggcacag cctctgtcgtgtgcctgctgaacaacttctacccccgcgaggccaaagtg cagtggaaggtggacaacgccctgcagagcggcaacagccaggaaa gcgtgaccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctgagcag caccctgacactgagcaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacg cctgcgaagtgacccaccagggcctgtctagccccgtgaccaagagctt caaccggggcgagtgt	**SEQ ID NO: 24**
Cadena pesada B (Anti–CD28 x Anti–CD3–H_OjaI:)	**Anti–CD28 x Anti–CD3–H_OjaI:** caggtgcagctgcaggaatctggccctggcctcgtgaagcctagccag accctgagcctgacctgtaccgtgtccggcttcagcctgagcgactacgg cgtgcactgggtgcgccagccacctggaaaaggcctggaatggctggg cgtgatctgggctggcggaggcaccaactacaaccccagcctgaagtc cagaaagaccatcagcaaggacaccagcaagaaccaggtgtccctg aagctgagcagcgtgacagccgccgataccgccgtgtactactgcgcc agagacaagggctacagctactactacagcatggactactggggccag ggcaccaccgtgaccgtgtcatcctctcaggtgcagctggtggaatctgg cggcggagtggtgcagcctggcagaagcctgagactgagctgtgccgc cagcggcttcaccttcaccaaggcctggatgcactgggtgcgccaggcc cctggaaagcagctggaatgggtggcccagatcaaggacaagagca acagctacgccacctactacgccgacagcgtgaagggccggttcacca tcagccgggacgacagcaagaacaccctgtacctgcagatgaacagc ctgcgggccgaggacaccgccgtgtactactgtcggggcgtgtactatg ccctgagcccttcgattactggggccagggaaccctcgtgaccgtgtct agtcggaccgcttcgaccaagggcccatcggtgttccctctggcccctg cagcagaagcaccagcgaatctacagccgccctgggctgcctcgtgaa ggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggcgctctgac aagcggcgtgcacaccttccagccgtgctccagagcagcggcctgtac tctctgagcagcgtcgtgacagtgcccagcagcagcctgggcaccaag acctacacctgtaacgtggaccacaagcccagcaacaccaaggtgga caagcgggtggaatctaagtacggccctccctgccctccttgcccagcc cctgaatttctgggcggaccctccgtgttcctgttccccccaaagcccaag gacaccctgatgatcagccggacccccgaagtgacctgcgtggtggtg gatgtgtcccaggaagatcccgaggtgcagttcaattggtacgtggacg gcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcccagagaggaacagtt caacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggac tggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaagggcct	**SEQ ID NO: 11**

	gcccagctccatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggccagccc cgcgagcctcaagtgtgtaccctgccccctagccaggaagagatgacc aagaaccaggtgtccctgagctgtgccgtgaaaggcttctaccccagcg acattgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaacaactac aagaccacccccccctgtgctggacagcgacggctcattcttcctggtgtc caagctgaccgtggacaagagccggtggcaggaaggcaacgtgttca gctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacacccagaagt ccctgtctctgtccctgggcaag	
Cadena ligera B (Anti–CD3 x Anti–CD28–L:)	**Anti–CD3 x Anti–CD28–L:** gacatcgtgatgacccagaccccctgagcctgagcgtgacacctgga cagcctgccagcatcagctgcaagagcagccagagcctggtgcacaa caacgccaacacctacctgagctggtatctgcagaagcccggccagag cccccagtccctgatctacaaggtgtccaacagattcagcggcgtgccc gacagattctccggcagcggctctggcaccgacttcaccctgaagatca gccgggtggaagccgaggacgtgggcgtgtactattgtggccagggca cccagtacccttcacctttggcagcggcaccaaggtggaaatcaagg gccagcccaaggccgcccccgacatcgtgctgacacagagccctgct agcctggccgtgtctcctggacagagggccaccatcacctgtagagcca gcgagagcgtggaatattacgtgaccagcctgatgcagtggtatcagca gaagcccggccagccccccaagctgctgattttcgccgccagcaacgt ggaaagcggcgtgccagccagattttccggcagcggctctggcaccga cttcaccctgaccatcaaccccgtggaagccaacgacgtggccaacta ctactgccagcagagccggaaggtgccctacacctttggccagggcac caagctggaaatcaagaccaagggccccagccgtacggtggccgctc ccagcgtgttcatcttcccacctagcgacgagcagctgaagtccggcac agcctctgtcgtgtgcctgctgaacaacttctacccccgcgaggccaaag tgcagtggaaggtggacaacgccctgcagagcggcaacagccagga aagcgtgaccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctgagc agcaccctgacactgagcaaggccgactacgagaagcacaaggtgta cgcctgcgaagtgacccaccagggcctgtctagccccgtgaccaagag cttcaaccggggcgagtgt	**SEQ ID NO: 12**
Secuencias de aminoácidos de la proteína de unión 20		
Cadena pesada A (Anti–CD20–H_Botón)	**Anti–CD20–H_Botón:** Qvqlqqpgaelvkpgasvkmsckas***gitftsin***mhwvkqtpgrglew iga***iipgngdt***sinqkfkgkatltadkssstaimqlssltsedsaviic***arst*** ***iiggdwifnv***wgagttvtvsaastkgpsvfplapcsrstsestaalgclvk difpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglislssvvtvpssslgtktitcn vdhkpsntkvdkrveskigppcppcpapeflggpsvflfppkpkdtlmis rtpevtcvvvdvsqedpevqfnwivdgvevhnaktkpreeqfnstirvvs vltvlhqdwlngkeikckvsnkglpssiektiskakgqprepqvitlppcq eemtknqvslwclvkgfipsdiavewesngqpennikttppvldsdgsff liskltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhitqkslslslgk	**SEQ ID NO: 114**
Cadena ligera A (Anti–CD20–L)	**Anti–CD20–L:** Qivlsqspailsaspgekvtmtcras***ssvsi***ihwfqqkpgsspkpwii***at*** ***s***nlasgvpvrfsgsgsgtsisltisrveaedaatiic***qqwtsnp***ptfgggt kleikrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfipreakvqwkvdnal qsgnsqesvteqdskdstislsstltlskadiekhkviacevtqglsspvtk sfnrgec	**SEQ ID NO: 115**
Cadena pesada B	**CD28 x CD3–H_Ojal:** Qvqlvqsgaevvkpgasvkvsckas***gitftsii***ihwvrqapgqglewig s***iipgnvnt***niaqkfqgratltvdtsistaimelsrlrsddtaviic***trshigld***	**SEQ ID NO: 3**

(CD28 x CD3–H_Ojal)	***wnfdv***wgkgttvtvsssqvqlvesgggvvqpgrslrlscaas***gftftka w***mhwvrqapgkqlewvaq***ikdksns***iatiiadsvkgrftisrddskntli lqmnslraedtaviic***rgviialspfdi***wgqgtlvtvssrtastkgpsvfpla pcsrstsestaalgclvkdifpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglisl ssvvtvpssslgtktitcnvdhkpsntkvdkrveskigppcppcpapeflg gpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwivdgvevh naktkpreeqfnstirvvsvltvlhqdwlngkeikckvsnkglpssiektisk akgqprepqvctlppsqeemtknqvslscavkgfipsdiavewesngq pennikttppvldsdgsfflvskltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhit qkslslslgk	
Cadena ligera B (CD3 x CD28–L)	**CD3 x CD28–L:** Divmtqtplslsvtpgqpasisckss***qslvhnnanti***lswilqkpgqspq slii***kvs***nrfsgvpdrfsgsgsgtdftlkisrveaedvgviic***gqgtqip***ftfg sgtkveikgqpkaapdiqmtqspsslsasvgdrvtitcqas***qniivw***ln wiqqkpgkapkllii***kas***nlhtgvpsrfsgsgsgtdftltisslqpediatiic***q qgqtipit***fgqgtkleiktkgpsrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvclln nfipreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstislsstltlskadiek hkviacevtqglsspvtksfnrgec	**SEQ ID NO: 4**
Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 20		
Cadena pesada A (Anti–CD20–H_Botón:)	**Anti–CD20–H_Botón:** caggtgcagctgcagcagcctggcgccgaactcgtgaaacctggcgc ctccgtgaagatgagctgcaaggccagcggctacaccttcaccagcta caacatgcactgggtcaagcagacccccggcagaggcctggaatgga tcggcgccatctaccccggcaacggcgacacctcctacaaccagaagt tcaagggcaaggccaccctgaccgccgacaagagcagcagcacag cctacatgcagctgtccagcctgaccagcgaggacagcgccgtgtact actgcgccagaagcacctactacggcggcgactggtacttcaacgtgtg gggagccggcaccaccgtgacagtgtctgctgcttcgaccaagggccc atcggtgttccctctggccccttgcagcagaagcaccagcgaatctaca gccgccctgggctgcctcgtgaaggactactttcccgagcccgtgaccgt gtcctggaactctggcgctctgacaagcggcgtgcacacctttccagccg tgctccagagcagcggcctgtactctctgagcagcgtcgtgacagtgcc cagcagcagcctgggcaccaagacctacacctgtaacgtggaccaca agcccagcaacaccaaggtggacaagcgggtggaatctaagtacgg ccctccctgccctccttgcccagcccctgaatttctgggcggaccctccgt gttcctgttcccccccaaagcccaaggacaccctgatgatcagccggacc cccgaagtgacctgcgtggtggtggatgtgtcccaggaagatcccgag gtgcagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaag accaagcccagagaggaacagttcaacagcacctaccgggtggtgtc cgtgctgaccgtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtacaa gtgcaaggtgtccaacaagggcctgcccagctccatcgagaaaaccat cagcaaggccaagggccagccccgcgagcctcaagtgtataccctgc ccccttgccaggaagagatgaccaagaaccaggtgtccctgtggtgtct cgtgaaaggcttctaccccagcgacattgccgtggaatgggagagcaa cggccagcccgagaacaactacaagaccacccccccctgtgctggaca gcgacggctcattcttcctgtactccaagctgaccgtggacaagagccg gtggcaggaaggcaacgtgttcagctgctccgtgatgcacgaggccctg cacaaccactacacccagaagtccctgtctctgtccctgggcaag	**SEQ ID NO: 116**
Cadena ligera A	**Anti–CD20–L:** cagatcgtgctgagccagagccctgccatcctgagcgcttccccaggcg agaaagtgaccatgacctgcagagccagcagcagcgtgtcctacatcc	**SEQ ID NO: 117**

(Anti–CD20–L)	actggttccagcagaagcccggcagcagccccaagccttggatctacg ccaccagcaatctggccagcggagtgcctgtgcggtttagcggctctgg cagcggcacaagctacagcctgaccatcagccgggtggaagccgaa gatgccgccacctactactgccagcagtggaccagcaacccccccac atttggcggaggcaccaagctggaaatcaagcgtacggtggccgctcc cagcgtgttcatcttcccacctagcgacgagcagctgaagtccggcaca gcctctgtcgtgtgcctgctgaacaacttctacccccgcgaggccaaagt gcagtggaaggtggacaacgccctgcagagcggcaacagccagga aagcgtgaccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctgagc agcaccctgacactgagcaaggccgactacgagaagcacaaggtgta cgcctgcgaagtgacccaccagggcctgtctagccccgtgaccaagag cttcaaccggggcgagtgt	
Cadena pesada B (CD28xCD3–H_Ojal:)	CD28xCD3–H_Ojal: caggtgcagctggtgcagtctggcgccgaggtcgtgaaacctggcgcct ctgtgaaggtgtcctgcaaggccagcggctacacctttaccagctactac atccactgggtgcgccaggcccctggacagggactggaatggatcggc agcatctaccccggcaacgtgaacaccaactacgcccagaagttccag ggcagagccaccctgaccgtggacaccagcatcagcaccgcctacat ggaactgagccggctgagaagcgacgacaccgccgtgtactactgca cccggtcccactacggcctggattggaacttcgacgtgtggggcaaggg caccaccgtgacagtgtctagcagccaggtgcagctggtggaatctggc ggcggagtggtgcagcctggcagaagcctgagactgagctgtgccgcc agcggcttcaccttcaccaaggcctggatgcactgggtgcgccaggccc ctggaaagcagctggaatgggtggcccagatcaaggacaagagcaa cagctacgccacctactacgccgacagcgtgaagggccggttcaccat cagccgggacgacagcaagaacaccctgtacctgcagatgaacagc ctgcgggccgaggacaccgccgtgtactactgtcggggcgtgtactatg ccctgagccccttcgattactggggccagggaaccctcgtgaccgtgtct agtcggaccgccagcacaaagggcccatcggtgttccctctggcccctt gcagcagaagcaccagcgaatctacagccgccctgggctgcctcgtg aaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggcgctct gacaagcggcgtgcacaccttccagccgtgctccagagcagcggcct gtactctctgagcagcgtcgtgacagtgcccagcagcagcctgggcac caagacctacacctgtaacgtggaccacaagcccagcaacaccaag gtggacaagcgggtggaatctaagtacggccctccctgccctccttgccc agcccctgaatttctgggcggaccctccgtgttcctgttccccccaaagcc caaggacaccctgatgatcagccggacccccgaagtgacctgcgtggt ggtggatgtgtcccaggaagatcccgaggtgcagttcaattggtacgtgg acggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcccagagaggaac agttcaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcacca ggactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaagg gcctgcccagctccatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggcca gccccgcgagcctcaagtgtgtaccctgccccctagccaggaagagat gaccaagaaccaggtgtccctgagctgtgccgtgaaaggcttctacccc agcgacattgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaaca actacaagaccacccccctgtgctggacagcgacggctcattcttcctg gtgtccaagctgaccgtggacaagagccggtggcaggaaggcaacgt gttcagctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaaccactacacccag aagtccctgtctctgtccctgggcaag	**SEQ ID NO: 7**

Cadena ligera B (CD3xCD28–L_Ojal:)	**CD3 x CD28–L_Ojal:** gacatcgtgatgacccagacccccctgagcctgagcgtgacacctgga cagcctgccagcatcagctgcaagagcagccagagcctggtgcacaa caacgccaacacctacctgagctggtatctgcagaagcccggccaga gcccccagtccctgatctacaaggtgtccaacagattcagcggcgtgcc ccgacagattctccggcagcggctctggcaccgacttcaccctgaagatc agccgggtggaagccgaggacgtgggcgtgtactattgtggccagggc acccagtacccccttcaccctttggcagcggcaccaaggtggaaatcaag ggccagcccaaggccgccccccgacatccagatgacccagagccccca gcagcctgtctgccagcgtgggcgacagagtgaccatcacctgtcagg ccagccagaacatctacgtgtggctgaactggtatcagcagaagcccg gcaaggcccccaagctgctgatctacaaggccagcaacctgcacacc ggcgtgcccagcagattttctggcagcggctccggcaccgacttcaccct gacaatcagctccctgcagcccgaggacattgccacctactactgccag cagggccagacctacccctacacctttggccagggcaccaagctggaa atcaagaccaagggccccagccgtacggtggccgctcccagcgtgttc atcttcccacctagcgacgagcagctgaagtccggcacagcctctgtcgt gtgcctgctgaacaacttctacccccgcgaggccaaagtgcagtggaa ggtggacaacgccctgcagagcggcaacagccaggaaagcgtgacc gagcaggacagcaaggactccacctacagcctgagcagcaccctga cactgagcaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgcgaa gtgacccaccagggcctgtctagccccgtgaccaagagcttcaaccgg ggcgagtgt	**SEQ ID NO: 8**
Proteína de unión 21 Secuencias de aminoácidos de la		
Cadena pesada A (Anti–CD20–H_Botón)	**Anti–CD20–H_Botón:** qvqlqqpgaelvkpgasvkmsckas***gitftsin***mhwvkqtpgrglewiga***iipg ngdt***sinqkfkgkatltadkssstaimqlssltsedsaviic***arstiiggdwifnv***w gagttvtvsaastkgpsvfplapcsrstsestaalgclvkdifpepvtvswnsgalts gvhtfpavlqssglislssvvtvpssslgtktitcnvdhkpsntkvdkrveskigppc ppcpapeflggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwivdgv evhnaktkpreeqfnstirvvsvltvlhqdwlngkeikckvsnkglpssiektiskak gqprepqvitlppcqeemtknqvslwclvkgfipsdiavewesngqpennikttp pvldsdgsffliskltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhitqkslslslgk	**SEQ ID NO: 114**
Cadena ligera A (Anti–CD20–L)	**Anti–CD20–L:** qivlsqspailsaspgekvtmtcras***ssvsi***ihwfqqkpgsspkpwii***ats***nlasg vpvrfsgsgsgtsisltisrveaedaatiic***qqwtsnp***ptfgggtkleikrtvaapsvf ifppsdeqlksgtasvvcllnnfipreakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdst islsstltlskadiekhkviacevtqglsspvtksfnrgec	**SEQ ID NO: 115**
Cadena pesada B (CD28 x CD3–H_Ojal)	**CD28 x CD3–H_Ojal:** qvqlqesgpglvkpsqtlsltctvsgfslsdigvhwvrqppgkglewlgviwagggt ninpslksrktiskdtsknqvslklssvtaadtaviicardkgisiiismdiwgqgttvtv sssqvqlvesgggvvqpgrslrlscaasgftftkawmhwvrqapgkqlewvaqi kdksnsiatiiadsvkgrftisrddskntlilqmnslraedtaviicrgviialspfdiwgq gtlvtvssrtastkgpsvfplapcsrstsestaalgclvkdifpepvtvswnsgaltsg vhtfpavlqssglislssvvtvpssslgtktitcnvdhkpsntkvdkrveskigppcp pcpapeflggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvsqedpevqfnwivdgve vhnaktkpreeqfnstirvvsvltvlhqdwlngkeikckvsnkglpssiektiskakg qprepqvctlppsqeemtknqvslscavkgfipsdiavewesngqpennikttp pvldsdgsfflvskltvdksrwqegnvfscsvmhealhnhitqkslslslgk	**SEQ ID NO: 9**

Cadena ligera B (CD3 x CD28–L)	CD3 x CD28–L divmtqtplslsvtpgqpasisckssqslvhnnantilswilqkpgqspqsliikvsnr fsgvpdrfsgsgsgtdftlkisrveaedvgviicgqgtqipftfgsgtkveikgqpkaa pdivltqspaslavspgqratitcrasesveiivtslmqwiqqkpgqppkllifaasn vesgvparfsgsgsgtdftltinpveandvaniicqqsrkvpitfgqgtkleiktkgps rtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfipreakvqwkvdnalqsgnsqesvt eqdskdstislsstltlskadiekhkviacevtqglsspvtksfnrgec	**SEQ ID NO: 10**
Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 21		
Cadena pesada A (Anti–CD20–H_Botón:)	**Anti–CD20–H_Botón:** caggtgcagctgcagcagcctggcgccgaactcgtgaaacctggcgcctccgtg aagatgagctgcaaggccagcggctacaccttcaccagctacaacatgcactgg gtcaagcagacccccggcagaggcctggaatggatcggcgccatctaccccgg caacggcgacacctcctacaaccagaagttcaagggcaaggccaccctgacc gccgacaagagcagcagcacagcctacatgcagctgtccagcctgaccagcg aggacagcgccgtgtactactgcgccagaagcacctactacggcggcgactggt acttcaacgtgtggggagccggcaccaccgtgacagtgtctgctgcttcgaccaa gggcccatcggtgttccctctggccccttgcagcagaagcaccagcgaatctaca gccgccctgggctgcctcgtgaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctg gaactctggcgctctgacaagcggcgtgcacaccttccagccgtgctccagagc agcggcctgtactctctgagcagcgtcgtgacagtgcccagcagcagcctgggc accaagacctacacctgtaacgtggaccacaagcccagcaacaccaaggtgg acaagcgggtggaatctaagtacggccctccctgccctccttgcccagcccctga atttctgggcggaccctccgtgttcctgttccccccaaagcccaaggacaccctgat gatcagccggacccccgaagtgacctgcgtggtggtggatgtgtcccaggaaga tcccgaggtgcagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaa gaccaagcccagagaggaacagttcaacagcacctaccgggtggtgtccgtgc tgaccgtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgt ccaacaagggcctgcccagctccatcgagaaaaccatcagcaaggccaaggg ccagccccgcgagcctcaagtgtataccctgccccttgccaggaagagatgac caagaaccaggtgtccctgtggtgtctcgtgaaaggcttctaccccagcgacattg ccgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaacaactacaagaccaccc ccctgtgctggacagcgacggctcattcttcctgtactccaagctgaccgtggac aagagccggtggcaggaaggcaacgtgttcagctgctccgtgatgcacgaggc ctgcacaaccactacacccagaagtccctgtctctgtccctgggcaag	**SEQ ID NO: 116**
Cadena ligera A (Anti–CD20–L:)	**Anti–CD20–L:** cagatcgtgctgagccagagccctgccatcctgagcgcttccccaggcgagaaa gtgaccatgacctgcagagccagcagcagcgtgtcctacatccactggttccagc agaagcccggcagcagccccaagccttggatctacgccaccagcaatctggcc agcggagtgcctgtgcggtttagcggctctggcagcggcacaagctacagcctg accatcagccgggtggaagccgaagatgccgccacctactactgccagcagtg gaccagcaacccccccacatttggcggaggcaccaagctggaaatcaagcgta cggtggccgctcccagcgtgttcatcttcccacctagcgacgagcagctgaagtc cggcacagcctctgtcgtgtgcctgctgaacaacttctacccccgcgaggccaaa gtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagagcggcaacagccaggaaagc gtgaccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctgagcagcaccctga cactgagcaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgcgaagtgac ccaccagggcctgtctagccccgtgaccaagagcttcaaccggggcgagtgt	**SEQ ID NO: 117**
Cadena pesada B (**CD28 x**	**CD28 x CD3–H_Ojal:** caggtgcagctgcaggaatctggccctggcctcgtgaagcctagccagaccctg agcctgacctgtaccgtgtccggcttcagcctgagcgactacggcgtgcactgggt	**SEQ ID NO: 118**

CD3–H_OjaI:	gcgccagccacctggaaaaggcctggaatggctgggcgtgatctgggctggcg gaggcaccaactacaaccccagcctgaagtccagaaagaccatcagcaagga caccagcaagaaccaggtgtccctgaagctgagcagcgtgacagccgccgata ccgccgtgtactactgcgccagagacaagggctacagctactactacagcatgg actactggggccagggcaccaccgtgaccgtgtcatcctctcaggtgcagctggt ggaatctggcggcggagtggtgcagcctggcagaagcctgagactgagctgtgc cgccagcggcttcaccttcaccaaggcctggatgcactgggtgcgccaggcccct ggaaagcagctggaatgggtggcccagatcaaggacaagagcaacagctac gccacctactacgccgacagcgtgaagggccggttcaccatcagccgggacga cagcaagaacaccctgtacctgcagatgaacagcctgcgggccgaggacacc gccgtgtactactgtcggggcgtgtactatgccctgagccccttcgattactggggc cagggaaccctcgtgaccgtgtctagtcggaccgcttcgaccaagggcccatcg gtgttccctctggccccttgcagcagaagcaccagcgaatctacagccgccctgg gctgcctcgtgaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggc gctctgacaagcggcgtgcacacctttccagccgtgctccagagcagcggcctgt actctctgagcagcgtcgtgacagtgcccagcagcagcctgggcaccaagacct acacctgtaacgtggaccacaagcccagcaacaccaaggtggacaagcgggt ggaatctaagtacggccctccctgccctccttgcccagcccctgaatttctgggcgg accctccgtgttcctgttccccccaaagcccaaggacaccctgatgatcagccgg acccccgaagtgacctgcgtggtggtggatgtgtcccaggaagatcccgaggtg cagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcacaacgccaagaccaagcc cagagaggaacagttcaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgct gcaccaggactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaag ggcctgcccagctccatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggccagcccc gcgagcctcaagtgtgtaccctgccccctagccaggaagagatgaccaagaac caggtgtccctgagctgtgccgtgaaaggcttctaccccagcgacattgccgtgga atgggagagcaacggccagcccgagaacaactacaagaccacccccctgtg ctggacagcgacggctcattcttcctggtgtccaagctgaccgtggacaagagcc ggtggcaggaaggcaacgtgttcagctgctccgtgatgcacgaggccctgcaca accactacacccagaagtccctgtctctgtccctgggcaag	
Cadena ligera B (CD3_CD28–L:)	(CD3_CD28–L:: gacatcgtgatgacccagacccccctgagcctgagcgtgacacctggacagcct gccagcatcagctgcaagagcagccagagcctggtgcacaacaacgccaaca cctacctgagctggtatctgcagaagcccggccagagcccccagtccctgatcta caaggtgtccaacagattcagcggcgtgcccgacagattctccggcagcggctct ggcaccgacttcaccctgaagatcagccgggtggaagccgaggacgtgggcgt gtactattgtggccagggcacccagtacccccttcaccctttggcagcggcaccaag gtggaaatcaagggccagcccaaggccgccccccgacatcgtgctgacacaga gccctgctagcctggccgtgtctcctggacagagggccaccatcacctgtagagc cagcgagagcgtggaatattacgtgaccagcctgatgcagtggtatcagcagaa gcccggccagcccccccaagctgctgattttcgccgccagcaacgtggaaagcg gcgtgccagccagattttccggcagcggctctggcaccgacttcaccctgaccatc aaccccgtggaagccaacgacgtggccaactactactgccagcagagccgga aggtgccctacacctttggccagggcaccaagctggaaatcaagaccaagggc cccagccgtacggtggccgctcccagcgtgttcatcttcccacctagcgacgagc agctgaagtccggcacagcctctgtcgtgtgcctgctgaacaacttctacccccgc gaggccaaagtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagagcggcaacagc caggaaagcgtgaccgagcaggacagcaaggactccacctacagcctgagc agcaccctgacactgagcaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgcct gcgaagtgacccaccagggcctgtctagccccgtgaccaagagcttcaaccgg ggcgagtgt	**SEQ ID NO: 119**

Tabla 3: Secuencias de cadena pesada y ligera de proteínas de unión específicamente dirigidas a IL–4, IL–13 y/o TNFa.

Secuencias de aminoácidos de la proteína de unión 9		
Cadena pesada A	**HC :** EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG	**SEQ ID NO: 60**
Cadena ligera A	**LC:** DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKP GKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGQPKAAPSVTLFPP SSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVE TTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEG STVEKTVAPTECS	**SEQ ID NO: 61**
Cadena pesada B	**HC:** QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTSYWIHWIKQR PGQGLEWIGMIDPSDGETRLNQRFQGRATLTVDESTSTA YMQLRSPTSEDSAVYYCTRLKEYGNYDSFYFDVWGAGTL VTVSSEVQLKESGPGLVAPGGSLSITCTVSGFSLTDSSIN WVRQPPGKGLEWLGMIWGDGRIDYADALKSRLSISKDSS KSQVFLEMTSLRTDDTATYYCARDGYFPYAMDFWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNRFTQKSLSLSPG	**SEQ ID NO: 62**
Cadena ligera B	**LC:** DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGQSYMHWY QQKAGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTIDP VQAEDAATYYCQQNAEDSRTFGGGTKLEIKGGSGSSGSG GDIQMTQSPASLSVSVGDTITLTCHASQNIDVWLSWFQQK PGNIPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTGFTLTISSLQP EDIATYYCQQAHSYPFTFGGGTKLEIKGGSGSSGSGGRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK	**SEQ ID NO: 63**

	VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 9		
Cadena pesada A	**HC:** gaggtgcagctggtggaaagcggcggaggactggtgcagcccggcagaagcc tgagactgagctgcgccgccagcggcttcaccttcgacgactacgccatgcactg ggtccgccaggcccctggcaagggcctggaatgggtgtccgccatcacctggaa cagcggccacatcgactacgccgacagcgtggaaggccggttcaccatcagcc gggacaacgccaagaacagcctgtacctgcagatgaacagcctgcgggccga ggacaccgccgtgtactactgcgccaaggtgtcctacctgagcaccgccagcag cctggactactggggccagggcaccctggtgacagtgtccagcgcttccaccaa gggccccagcgtgttccccctggccctagcagcaagagcacatctggcggcac agccgccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgagcccgtgacagtgtcc tggaactctggcgccctgaccagcggagtgcataccttccctgccgtgctgcagtc cagcggcctgtacagcctgagcagcgtggtcacagtgcccagcagcagcctgg gcacccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagcccagcaacaccaaggt ggacaagaaggtggaacccaagagctgcgacaagacccacacctgtcccccc tgccctgcccctgaactgctgggcggaccctccgtgttcctgttcccccccaaagcc caaggacaccctgatgatcagccggacccccgaagtgacctgcgtggtggtgg acgtgtcccacgaggaccctgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtgga agtgcataacgccaagaccaagcccagagaggaacagtacaacagcaccta ccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggactggctgaacggcaaaga gtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgcccccatcgagaaaaccat cagcaaggccaagggccagcctagagagccccaagtctgcaccctgcccccc agcagagatgagctgaccaagaaccaggtgtccctgagctgcgccgtgaaggg cttctaccccagcgatatcgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgaga acaactacaagaccacccccctgtgctggacagcgacggctcattcttcctggt gtccaagctgacagtggacaagagccggtggcagcagggcaacgtgttcagct gcagcgtgatgcacgaggccctgcacaaccattacacccagaagtccctgagc ctgagccccggc	**SEQ ID NO: 64**
Cadena ligera A	**LC:** gacatccagatgacccagagccccagcagcctgagcgccagcgtgggcgaca gagtgaccatcacctgtcgggccagccagggcatccggaactacctggcctggt atcagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgatctacgccgccagcac actgcagagcggcgtgcccagcagattcagcggcagcggctccggcaccgact tcaccctgaccatcagcagcctgcagcccgaggacgtggccacctactactgcc agcggtacaacagagccccctacaccttcggccagggcaccaaggtggaaatc aagggacagcccaaggctgccccctcggtcaccctgttcccccaagcagcga ggaactgcaggccaacaaggccaccctcgtgtgcctgatcagcgacttctaccct ggcgccgtgaccgtggcctggaaggccgatagctctcccgtgaaggccggcgtg gaaaccaccacccccagcaagcagagcaacaacaaatacgccgcctccagct acctgagcctgacccccgagcagtggaagtcccaccggtcctacagctgccag gtcacacacgagggcagcaccgtggaaaagaccgtggcccccaccgagtgca gc	**SEQ ID NO: 65**
Cadena pesada B	**HC :** caggtgcagctgcagcagagcggccctgagctggtcaagcctggcgccagcgt gaagatcagctgcaaggccagcggctacagcttcaccagctactggatccactg gatcaagcagcggcctggccagggcctggaatggatcggcatgatcgacccca gcgacggcgagacacggctgaaccagagattccagggcagagccaccctgac cgtggacgagagcaccagcaccgcctacatgcagctgcggagccccaccagc gaggacagcgccgtgtactactgcacccggctgaaagagtacggcaactacga	**SEQ ID NO: 66**

	cagcttctacttcgacgtgtggggagccggcaccctggtcaccgtgtccagcgaa gtgcagctgaaagaaagcggccctggcctggtggcccctggcggcagcctgag catcacctgtaccgtgtccggcttcagcctgaccgacagcagcatcaactgggtc cgacagccccctggcaagggcctcgagtggctgggaatgatctggggcgacgg ccggatcgactacgccgacgccctgaagtcccggctgagcatcagcaaggaca gcagcaagagccaggtgttcctggaaatgaccagcctgcggaccgacgacacc gccacctactactgcgccagggacggctacttcccctacgccatggatttctgggg ccagggcaccagcgtgaccgtgtcctctgcttccaccaagggccccagcgtgttc cctctggcccctagcagcaagagcacatctggcggaacagccgccctgggctg cctggtcaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggtgccct gacaagcggagtgcataccttccctgccgtgctgcagagcagcggcctgtactct ctgagcagcgtggtcaccgtgccaagcagcagcctgggcacccagacctacat ctgcaacgtgaaccacaagccctccaacaccaaggtggacaagaaggtggaa cccaagagctgcgacaagacccacacctgtcctccctgtcctgcccctgaactgc tgggcggaccctccgtgttcctgttccctccaaagcccaaggataccctgatgatc agccggacccctgaagtgacctgcgtggtggtggacgtgtcccacgaggatccc gaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcataacgccaagacc aagcccagagaggaacagtacaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgac agtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtcca acaaggccctgccagcccctatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggcca gccccgcgagcctcaggtgtacacactgcctccatgccgggacgagctgacca agaaccaggtgtccctgtggtgcctcgtgaagggcttctacccctccgatatcgcc gtggaatgggagagcaacggccagcccgagaacaactacaagaccacccctc ccgtgctggacagcgacggctcattcttcctgtacagcaagctgaccgtggacaa gtcccggtggcagcagggcaacgtgttcagctgctctgtgatgcacgaggccctg cacaaccggttcacccagaagtccctgagcctgagccctggc	
Cadena ligera B	**LC:** Gacatcgtgctgacccagagccctgccagcctggccgtgtctctgggccagaga gccaccatcagctgccgggccagcgagagcgtggacagctacggccagagct acatgcactggtatcagcagaaggccggccagccccccaagctgctgatctacc tggccagcaacctggaaagcggcgtgcccgccagattcagcggcagcggcag cagaaccgacttcaccctgaccatcgaccccgtgcaggccgaggacgccgcca cctactactgccagcagaacgccgaggacagccggaccttcggcggaggcac caagctggaaatcaagggcggctccggcagcagcggctctggcggcgatatcc agatgacccagtcccccgcctccctgagcgtgtccgtgggcgacaccatcaccct gacatgccacgccagccagaacatcgacgtgtggctgagctggttccagcaga agcctggcaacatccctaagctgctcatctataaggcctccaacctgcacaccgg cgtgcccagcaggttttccggctctggcagcggcaccggctttaccctgacaatca gcagcctgcagcccgaggatatcgccacatattactgtcagcaggcccacagct acccctcaccttggcggcggaacaaagctcgagattaagggcggcagcgga agctccggctccggcggacgtacggtggccgctccttccgtgttcatcttccctccct ccgacgagcagctgaagtccggcaccgcctccgtggtgtgtctgctgaacaactt ctaccctcgggaggccaaggtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagtccg gcaactcccaggagtccgtcaccgagcaggactccaaggacagcacctactcc ctgtcctccaccctgaccctgtccaaggccgactacgagaagcacaaggtgtac gcctgtgaggtgacccaccagggcctgtccagccctgtgaccaagtccttcaacc ggggcgagtgc	**SEQ ID NO: 67**
Secuencias de aminoácidos de la proteína de unión 10		
Cadena pesada A	**HC :** EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNS	**SEQ ID NO: 60**

	LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG	
Cadena ligera A	**LC:** DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKP GKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGQPKAAPSVTLFPP SSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVE TTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEG STVEKTVAPTECS	**SEQ ID NO: 61**
Cadena pesada B	**HC:** EVQLKESGPGLVAPGGSLSITCTVSGFSLTDSSINWVRQP PGKGLEWLGMIWGDGRIDYADALKSRLSISKDSSKSQVFL EMTSLRTDDTATYYCARDGYFPYAMDFWGQGTSVTVSS QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTSYWIHWIKQR PGQGLEWIGMIDPSDGETRLNQRFQGRATLTVDESTSTA YMQLRSPTSEDSAVYYCTRLKEYGNYDSFYFDVWGAGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNRFTQKSLSLSPG	**SEQ ID NO: 68**
Cadena ligera B	**LC:** DIQMTQSPASLSVSVGDTITLTCHASQNIDVWLSWFQQKP GNIPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTGFTLTISSLQPE DIATYYCQQAHSYPFTFGGGTKLEIKGGSGSSGSGGDIVL TQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGQSYMHWYQQK AGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVQA EDAATYYCQQNAEDSRTFGGGTKLEIKGGSGSSGSGGRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	**SEQ ID NO: 69**
Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 10		
Cadena pesada A	**HC:** gaggtgcagctggtggaaagcggcggaggactggtgcagcccggcagaagcc tgagactgagctgcgccgccagcggcttcaccttcgacgactacgccatgcactg ggtccgccaggcccctggcaagggcctggaatgggtgtccgccatcacctggaa cagcggccacatcgactacgccgacagcgtggaaggccggttcaccatcagcc gggacaacgccaagaacagcctgtacctgcagatgaacagcctgcgggccga ggacaccgccgtgtactactgcgccaaggtgtcctacctgagcaccgccagcag	**SEQ ID NO: 64**

	cctggactactggggccagggcaccctggtgacagtgtccagcgcttccaccaa gggccccagcgtgttccccctggcccctagcagcaagagcacatctggcggcac agccgccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgagcccgtgacagtgtcc tggaactctggcgccctgaccagcggagtgcataccttccctgccgtgctgcagtc cagcggcctgtacagcctgagcagcgtggtcacagtgcccagcagcagcctgg gcacccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagcccagcaacaccaaggt ggacaagaaggtggaacccaagagctgcgacaagacccacacctgtcccccc tgccctgcccctgaactgctgggcggaccctccgtgttcctgttcccccaaagcc caaggacaccctgatgatcagccggaccccgaagtgacctgcgtggtggtgg acgtgtcccacgaggaccctgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtgga agtgcataacgccaagaccaagcccagagaggaacagtacaacagcaccta ccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggactggctgaacggcaaaga gtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgcccccatcgagaaaaccat cagcaaggccaagggccagcctagagagccccaagtctgcaccctgcccccc agcagagatgagctgaccaagaaccaggtgtccctgagctgcgccgtgaaggg cttctaccccagcgatatcgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgaga acaactacaagaccacccccccctgtgctggacagcgacggctcattcttcctggt gtccaagctgacagtggacaagagccggtggcagcagggcaacgtgttcagct gcagcgtgatgcacgaggccctgcacaaccattacacccagaagtccctgagc ctgagccccggc	
Cadena ligera A	**LC:** gacatccagatgacccagagccccagcagcctgagcgccagcgtgggcgaca gagtgaccatcacctgtcgggccagccagggcatccggaactacctggcctggt atcagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgatctacgccgccagcac actgcagagcggcgtgcccagcagattcagcggcagcggctccggcaccgact tcaccctgaccatcagcagcctgcagcccgaggacgtggccacctactactgcc agcggtacaacagagccccctacaccttcggccagggcaccaaggtggaaatc aagggacagcccaaggctgccccctcggtcaccctgttccccccaagcagcga ggaactgcaggccaacaaggccaccctcgtgtgcctgatcagcgacttctaccct ggcgccgtgaccgtggcctggaaggccgatagctctcccgtgaaggccggcgtg gaaaccaccacccccagcaagcagagcaacaacaaatacgccgcctccagct acctgagcctgacccccgagcagtggaagtcccaccggtcctacagctgccag gtcacacacgagggcagcaccgtggaaaagaccgtggcccccaccgagtgca gc	**SEQ ID NO: 65**
Cadena pesada B	**HC :** gaggtgcagctgaaagagtccggccctggactggtggcccctggcggcagcct gagcatcacctgtaccgtgtccggcttcagcctgaccgacagcagcatcaactgg gtccgacagcccccctggcaagggcctggaatggctgggcatgatctggggcga cggccggatcgactacgccgacgccctgaagtcccggctgagcatcagcaagg acagcagcaagagccaggtgttcctggaaatgaccagcctgcggaccgacga caccgccacctactactgcgccagggacggctacttcccctacgccatggatttct ggggccagggcaccagcgtgaccgtgtccagtcaggtccagctgcagcagagc ggccctgagctggtcaagcctggcgccagcgtgaagatcagctgcaaggccag cggctacagcttcaccagctactggatccactggatcaagcagcggcctggcca gggcctcgagtggatcggaatgatcgaccccagcgacggcgagacacggctg aaccagagattccagggcagagccaccctgaccgtggacgagagcaccagca ccgcctacatgcagctgcggagccccaccagcgaggacagcgccgtgtactac tgcacccggctgaaagaatacggcaactacgacagcttctacttcgacgtgtggg gagccggcaccctggtcaccgtgtctagcgcttccaccaagggccccagcgtgtt ccctctggcccctagcagcaagagcacatctggcggaacagccgccctgggct gcctggtcaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggtgcc	**SEQ ID NO: 97**

	ctgacaagcggagtgcataccttccctgccgtgctgcagagcagcggcctgtact ctctgagcagcgtggtcaccgtgccaagcagcagcctgggcacccagacctac atctgcaacgtgaaccacaagccctccaacaccaaggtggacaagaaggtgg aacccaagagctgcgacaagacccacacctgtcctccctgtcctgcccctgaact gctgggcggaccctccgtgttcctgttccctccaaagcccaaggataccctgatga tcagccggacccctgaagtgacctgcgtggtggtggacgtgtcccacgaggatcc cgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcataacgccaagac caagcccagagaggaacagtacaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctga cagtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtcc aacaaggccctgccagcccctatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggcc agccccgcgagcctcaggtgtacacactgcctccatgccgggacgagctgacc aagaaccaggtgtccctgtggtgcctcgtgaagggcttctacccctccgatatcgc cgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaacaactacaagaccaccct cccgtgctggacagcgacggctcattcttcctgtacagcaagctgaccgtggaca agtcccggtggcagcagggcaacgtgttcagctgctctgtgatgcacgaggccct gcacaaccggttcacccagaagtccctgagcctgagccctggc	
Cadena ligera B	**LC:** gacatccagatgacccagagccccgccagcctgagcgtgtccgtgggcgatac catcaccctgacctgccacgccagccagaacatcgacgtgtggctgagctggttc cagcagaagcccggcaacatccccaagctgctgatctacaaggccagcaacct gcacaccggcgtgcccagcagattcagcggctctggcagcggcaccggctttac cctgaccatcagcagcctgcagcccgaggatatcgccacctactactgccagca ggcccacagctacccctcaccttcggcggaggcaccaagctggaaatcaagg gcggcagcggcagctccggctctggcggcgatatcgtgctgacccagtctcccg cctccctggccgtgtctctgggccagagagccaccatcagctgccgggccagcg agagcgtggacagctacggccagagctacatgcactggtatcagcagaaggcc ggacagccccctaaactgctcatctacctggcctccaacctggaaagcggcgtg cccgccaggttttccggcagcggctccagaaccgacttcaccctgacaatcgacc ccgtgcaggccgaggacgccgccacatattactgtcagcagaacgccgaggac agcagaacctttggcggcggaacaaagctcgagattaagggcggctccggctc cagcggatctggcggacgtacggtggccgctccttccgtgttcatcttccctcctcc gacgagcagctgaagtccggcaccgcctccgtggtgtgtctgctgaacaacttcta ccctcgggaggccaaggtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagtccggc aactcccaggagtccgtcaccgagcaggactccaaggacagcacctactccct gtcctccaccctgaccctgtccaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgc ctgtgaggtgacccaccagggcctgtccagccctgtgaccaagtccttcaaccgg ggcgagtgc	**SEQ ID NO: 70**
Secuencias de aminoácidos de la proteína de unión 11		
Cadena pesada A	**HC :** EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLP PSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG	**SEQ ID NO: 60**

Cadena ligera A	**LC:** DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKP GKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQG LSSPVTKSFNRGEC	**SEQ ID NO: 71**
Cadena pesada B	**HC:** EVQLKESGPGLVAPGGSLSITCTVSGFSLTDSSINWVRQP PGKGLEWLGMIWGDGRIDYADALKSRLSISKDSSKSQVFL EMTSLRTDDTATYYCARDGYFPYAMDFWGQGTSVTVSS QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTSYWIHWIKQR PGQGLEWIGMIDPSDGETRLNQRFQGRATLTVDESTSTA YMQLRSPTSEDSAVYYCTRLKEYGNYDSFYFDVWGAGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNRFTQKSLSLSPG	**SEQ ID NO: 68**
Cadena ligera B	**LC:** DIQMTQSPASLSVSVGDTITLTCHASQNIDVWLSWFQQKP GNIPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTGFTLTISSLQPE DIATYYCQQAHSYPFTFGGGTKLEIKGGSGSSGSGGDIVL TQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGQSYMHWYQQK AGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVQA EDAATYYCQQNAEDSRTFGGGTKLEIKGGSGSSGSGGRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	**SEQ ID NO: 69**
Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 11		
Cadena pesada A	**HC:** gaggtgcagctggtggaaagcggcggaggactggtgcagcccggcagaagcc tgagactgagctgcgccgccagcggcttcaccttcgacgactacgccatgcactg ggtccgccaggcccctggcaagggcctggaatgggtgtccgccatcacctggaa cagcggccacatcgactacgccgacagcgtggaaggccggttcaccatcagcc gggacaacgccaagaacagcctgtacctgcagatgaacagcctgcgggccga ggacaccgccgtgtactactgcgccaaggtgtcctacctgagcaccgccagcag cctggactactggggccagggcaccctggtgacagtgtccagcgcttccaccaa gggccccagcgtgttccccctggccctagcagcaagagcacatctggcggcac agccgccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgagcccgtgacagtgtcc tggaactctggcgccctgaccagcggagtgcataccttccctgccgtgctgcagtc cagcggcctgtacagcctgagcagcgtggtcacagtgcccagcagcagcctgg gcacccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagcccagcaacaccaaggt ggacaagaaggtggaacccaagagctgcgacaagacccacacctgtcccccc tgccctgcccctgaactgctgggcggaccctccgtgttcctgttccccccaaagcc caaggacaccctgatgatcagccggacccccgaagtgacctgcgtggtggtgg acgtgtcccacgaggaccctgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtgga	**SEQ ID NO: 64**

	agtgcataacgccaagaccaagcccagagaggaacagtacaacagcaccta ccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggactggctgaacggcaaaga gtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgcccccatcgagaaaaccat cagcaaggccaagggccagcctagagagccccaagtctgcaccctgcccccc agcagagatgagctgaccaagaaccaggtgtccctgagctgcgccgtgaaggg cttctaccccagcgatatcgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgaga acaactacaagaccacccccccctgtgctggacagcgacggctcattcttcctggt gtccaagctgacagtggacaagagccggtggcagcagggcaacgtgttcagct gcagcgtgatgcacgaggccctgcacaaccattacacccagaagtccctgagc ctgagccccggc	
Cadena ligera A	**LC:** gacatccagatgacccagagccccagcagcctgagcgccagcgtgggcgaca gagtgaccatcacctgtcgggccagccagggcatccggaactacctggcctggt atcagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgatctacgccgccagcac actgcagagcggcgtgcccagcagattcagcggcagcggctccggcaccgact tcaccctgaccatcagcagcctgcagcccgaggacgtggccacctactactgcc agcggtacaacagagccccctacaccttcggccagggcaccaaggtggaaatc aagcgtacggtggccgctccttccgtgttcatcttccctccctccgacgagcagctg aagtccggcaccgcctccgtggtgtgtctgctgaacaacttctaccctcgggaggc caaggtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagtccggcaactcccaggagt ccgtcaccgagcaggactccaaggacagcacctactccctgtcctccaccctga ccctgtccaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgtgaggtgaccc accagggcctgtccagccctgtgaccaagtccttcaaccggggcgagtgc	**SEQ ID NO: 72**
Cadena pesada B	**HC :** gaggtgcagctgaaagagtccggccctggactggtggcccctggcggcagcct gagcatcacctgtaccgtgtccggcttcagcctgaccgacagcagcatcaactgg gtccgacagccccctggcaagggcctggaatggctgggcatgatctggggcga cggccggatcgactacgccgacgccctgaagtcccggctgagcatcagcaagg acagcagcaagagccaggtgttcctggaaatgaccagcctgcggaccgacga caccgccacctactactgcgccagggacggctacttcccctacgccatggatttct ggggccagggcaccagcgtgaccgtgtccagtcaggtccagctgcagcagagc ggccctgagctggtcaagcctggcgccagcgtgaagatcagctgcaaggccag cggctacagcttcaccagctactggatccactggatcaagcagcggcctggcca gggcctcgagtggatcggaatgatcgaccccagcgacggcgagacacggctg aaccagagattccagggcagagccaccctgaccgtggacgagagcaccagca ccgcctacatgcagctgcggagccccaccagcgaggacagcgccgtgtactac tgcacccggctgaaagaatacggcaactacgacagcttctacttcgacgtgtggg gagccggcaccctggtcaccgtgtctagcgcttccaccaagggccccagcgtgtt ccctctggcccctagcagcaagagcacatctggcggaacagccgccctgggct gcctggtcaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggtgcc ctgacaagcggagtgcataccttccctgccgtgctgcagagcagcggcctgtact ctctgagcagcgtggtcaccgtgccaagcagcagcctgggcacccagacctac atctgcaacgtgaaccacaagccctccaacaccaaggtggacaagaaggtgg aacccaagagctgcgacaagacccacacctgtcctccctgtcctgcccctgaact gctgggcggaccctccgtgttcctgttccctccaaagcccaaggataccctgatga tcagccggaccccctgaagtgacctgcgtggtggtggacgtgtcccacgaggatcc cgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcataacgccaagac caagcccagagaggaacagtacaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctga cagtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtcc aacaaggccctgccagcccctatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggcc agccccgcgagcctcaggtgtacacactgcctccatgccgggacgagctgacc	**SEQ ID NO: 97**

	aagaaccaggtgtccctgtggtgcctcgtgaagggcttctacccctccgatatcgc cgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaacaactacaagaccaccct cccgtgctggacagcgacggctcattcttcctgtacagcaagctgaccgtggaca agtcccggtggcagcagggcaacgtgttcagctgctctgtgatgcacgaggccct gcacaaccggttcacccagaagtccctgagcctgagccctggc	
Cadena ligera B	**LC:** gacatccagatgacccagagccccgccagcctgagcgtgtccgtgggcgatac catcaccctgacctgccacgccagccagaacatcgacgtgtggctgagctggttc cagcagaagcccggcaacatccccaagctgctgatctacaaggccagcaacct gcacaccggcgtgcccagcagattcagcggctctggcagcggcaccggctttac cctgaccatcagcagcctgcagcccgaggatatcgccacctactactgccagca ggcccacagctacccttcaccttcggcggaggcaccaagctggaaatcaagg gcggcagcggcagctccggctctggcggcgatatcgtgctgacccagtctcccg cctccctggccgtgtctctgggccagagagccaccatcagctgccgggccagcg agagcgtggacagctacggccagagctacatgcactggtatcagcagaaggcc ggacagccccctaaactgctcatctacctggcctccaacctggaaagcggcgtg cccgccaggttttccggcagcggctccagaaccgacttcaccctgacaatcgacc ccgtgcaggccgaggacgccgccacatattactgtcagcagaacgccgaggac agcagaacctttggcggcggaacaaagctcgagattaagggcggctccggctc cagcggatctggcggacgtacggtggccgctccttccgtgttcatcttccctccctcc gacgagcagctgaagtccggcaccgcctccgtggtgtgtctgctgaacaacttcta ccctcgggaggccaaggtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagtccggc aactcccaggagtccgtcaccgagcaggactccaaggacagcacctactccct gtcctccaccctgaccctgtccaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgc ctgtgaggtgacccaccagggcctgtccagccctgtgaccaagtccttcaaccgg ggcgagtgc	**SEQ ID NO: 70**
Secuencias de aminoácidos de la proteína de unión 12		
Cadena pesada A	**HC :** EVQLKESGPGLVAPGGSLSITCTVSGFSLTDSSINWVRQP PGKGLEWLGMIWGDGRIDYADALKSRLSISKDSSKSQVFL EMTSLRTDDTATYYCARDGYFPYAMDFWGQGTSVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	**SEQ ID NO: 73**
Cadena ligera A	**LC:** DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGQSYMHWY QQKAGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTIDP VQAEDAATYYCQQNAEDSRTFGGGTKLEIKGQPKAAPSV TLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPV KAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQ VTHEGSTVEKTVAPTECS	**SEQ ID NO: 74**
Cadena pesada B	**HC:** QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTSYWIHWIKQR PGQGLEWIGMIDPSDGETRLNQRFQGRATLTVDESTSTA YMQLRSPTSEDSAVYYCTRLKEYGNYDSFYFDVWGAGTL	**SEQ ID NO: 75**

	VTVSSEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAM HWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRD NAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNRFTQKSLSLSPG	
Cadena ligera B	**LC:** DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKP GKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGSGSSGSGGDIQ MTQSPASLSVSVGDTITLTCHASQNIDVWLSWFQQKPGNI PKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTGFTLTISSLQPEDIAT YYCQQAHSYPFTFGGGTKLEIKGGSGSSGSGGRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	**SEQ ID NO: 76**
Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 12		
Cadena pesada A	**HC:** gaggtgcagctgaaggagagcggccccggcctggtggcccccggcggcagcc tgagcatcacctgcaccgtgagcggcttcagcctgaccgacagcagcatcaact gggtgcgccagcccccccggcaagggcctggagtggctgggcatgatctggggc gacggccgcatcgactacgccgacgccctgaagagccgcctgagcatcagca aggacagcagcaagagccaggtgttcctggagatgaccagcctgcgcaccga cgacaccgccacctactactgcgcccgcgacggctacttcccctacgccatgga cttctggggccagggcaccagcgtgaccgtgagcagcgccagcaccaagggc cccagcgtgttcccccctggcccctagcagcaagagcacatctggcggcacagcc gccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgagcccgtgacagtgtcctgga actctggcgccctgaccagcggagtgcataccttccctgccgtgctgcagtccagc ggcctgtacagcctgagcagcgtggtcacagtgcccagcagcagcctgggcac ccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagcccagcaacaccaaggtggac aagaaggtggaacccaagagctgcgacaagacccacacctgtccccccctgcc ctgcccctgaactgctgggcggaccctccgtgttcctgttcccccccaaagcccaag gacaccctgatgatcagccggaccccccgaagtgacctgcgtggtggtggacgtg tcccacgaggaccctgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgc ataacgccaagaccaagcccagagaggaacagtacaacagcacctaccggg tggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtaca agtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgccccccatcgagaaaaccatcagc aaggccaagggccagcctagagagccccaagtctgcaccctgcccccccagca gagatgagctgaccaagaaccaggtgtccctgagctgcgccgtgaagggcttct accccagcgatatcgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaaca actacaagaccacccccccctgtgctggacagcgacggctcattcttcctggtgtcc aagctgacagtggacaagagccggtggcagcagggcaacgtgttcagctgcag cgtgatgcacgaggccctgcacaaccattacacccagaagtccctgagcctgag ccccggc	**SEQ ID NO: 77**

Cadena ligera A	**LC:** gacatcgtgctgacccagagccctgccagcctggccgtgtctctgggccagaga gccaccatcagctgccgggccagcgagagcgtggacagctacggccagagct acatgcactggtatcagcagaaggccggccagccccccaagctgctgatctacc tggccagcaacctggaaagcggcgtgcccgccagattcagcggcagcggcag cagaaccgacttcaccctgaccatcgaccccgtgcaggccgaggacgccgcca cctactactgccagcagaacgccgaggacagccggaccttcggcggaggcac caagctggaaatcaagggacagcccaaggctgccccctcggtcaccctgttccc cccaagcagcgaggaactgcaggccaacaaggccaccctcgtgtgcctgatca gcgacttctaccctggcgccgtgaccgtggcctggaaggccgatagctctcccgt gaaggccggcgtggaaaccaccaccccagcaagcagagcaacaacaaata cgccgccagcagctacctgagcctgacccccgagcagtggaagtcccaccggt cctacagctgccaggtcacacacgagggcagcaccgtggaaaagaccgtggc ccccaccgagtgcagc	**SEQ ID NO: 78**
Cadena pesada B	**HC :** caggtgcagctgcagcagagcggccctgagctggtcaagcctggcgccagcgt gaagatcagctgcaaggccagcggctacagcttcaccagctactggatccactg gatcaagcagcggcctggccagggcctggaatggatcggcatgatcgacccca gcgacggcgagacacggctgaaccagagattccagggcagagccaccctgac cgtggacgagagcaccagcaccgcctacatgcagctgcggagccccaccagc gaggacagcgccgtgtactactgcacccggctgaaagagtacggcaactacga cagcttctacttcgacgtgtggggagccggcaccctggtcaccgtgtccagcgaa gtgcagctggtggaaagcggcggaggcctggtgcagcccggcagaagcctga gactgagctgcgccgccagcggcttcaccttcgacgactacgccatgcactgggt ccgacaggcccctggcaaaggactggaatgggtgtccgccatcacctggaaca gcggccacatcgactacgccgacagcgtggaaggccggttcaccatcagccgg gacaacgccaagaacagcctgtacctgcagatgaacagcctgcgggccgagg ataccgccgtgtattattgcgccaaggtgtcctacctgagcaccgccagcagcctg gactactggggccagggcaccctcgtgacagtgtcctccgcttccaccaagggc cccagcgtgttccctctggccctagcagcaagagcacatctggcggaacagcc gccctgggctgcctggtcaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaa ctctggtgccctgacaagcggagtgcataccttccctgccgtgctgcagagcagc ggcctgtactctctgagcagcgtggtcaccgtgccaagcagcagcctgggcacc cagacctacatctgcaacgtgaaccacaagccctccaacaccaaggtggacaa gaaggtggaacccaagagctgcgacaagacccacacctgtcctccctgtcctgc ccctgaactgctgggcggaccctccgtgttcctgttccctccaaagcccaaggata ccctgatgatcagccggacccctgaagtgacctgcgtggtggtggacgtgtccca cgaggatcccgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcataa cgccaagaccaagcccagagaggaacagtacaacagcacctaccgggtggt gtccgtgctgacagtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtacaagtg caaggtgtccaacaaggccctgccagcccctatcgagaaaaccatcagcaagg ccaagggccagccccgcgagcctcaggtgtacacactgcctccatgccgggac gagctgaccaagaaccaggtgtccctgtggtgcctcgtgaagggcttctacccctc cgatatcgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaacaactacaag accacccctcccgtgctggacagcgacggctcattcttcctgtacagcaagctgac cgtggacaagtcccggtggcagcagggcaacgtgttcagctgctctgtgatgcac gaggccctgcacaaccggttcacccagaagtccctgagcctgagccctggc	**SEQ ID NO: 79**
Cadena ligera B	**LC:** gacatccagatgacccagagccccagcagcctgagcgccagcgtgggcgaca gagtgaccatcacctgtcgggccagccagggcatccggaactacctggcctggt atcagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgatctacgccgccagcac	**SEQ ID NO: 80**

	actgcagagcggcgtgcccagcagattcagcggcagcggctccggcaccgact tcaccctgaccatcagcagcctgcagcccgaggacgtggccacctactactgcc agcggtacaacagagccccctacaccttcggccagggcaccaaggtggaaatc aagggcggctctggcagctccggcagcggcggagacattcagatgacacagtc ccccgccagcctgtccgtgtccgtgggcgataccatcaccctgacatgccacgcc agccagaacatcgacgtgtggctgagctggttccagcagaaacctggcaacatc cctaagctgctcatctataaggccagcaacctgcacacaggcgtgccctccagat tctccggctctggctctggcaccggctttacactgacaatcagttctctgcagcctga ggatatcgccacatattactgtcagcaggcccacagctacccctttcaccttcggag gcggcaccaagctcgagattaagggcggaagcggctcctccggctccggcgga cgtacggtggccgctccttccgtgttcatcttccctccctccgacgagcagctgaagt ccggcaccgcctccgtggtgtgtctgctgaacaacttctaccctcgggaggccaa ggtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagtccggcaactcccaggagtccg tcaccgagcaggactccaaggacagcacctactccctgtcctccaccctgaccct gtccaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgtgaggtgacccacc agggcctgtccagccctgtgaccaagtccttcaaccggggcgagtgc	
Secuencias de aminoácidos de la **p**roteína de unión 13		
Cadena pesada A	**HC :** EVQLKESGPGLVAPGGSLSITCTVSGFSLTDSSINWVRQP PGKGLEWLGMIWGDGRIDYADALKSRLSISKDSSKSQVFL EMTSLRTDDTATYYCARDGYFPYAMDFWGQGTSVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	**SEQ ID NO: 73**
Cadena ligera A	**LC:** DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGQSYMHWY QQKAGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTIDP VQAEDAATYYCQQNAEDSRTFGGGTKLEIKGQPKAAPSV TLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPV KAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQ VTHEGSTVEKTVAPTECS	**SEQ ID NO: 74**
Cadena pesada B	**HC:** EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLV TVSSQVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTSYWIH WIKQRPGQGLEWIGMIDPSDGETRLNQRFQGRATLTVDE STSTAYMQLRSPTSEDSAVYYCTRLKEYGNYDSFYFDVW GAGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNG	**SEQ ID NO: 81**

	QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNRFTQKSLSLSPG	
Cadena ligera B	**LC:** DIQMTQSPASLSVSVGDTITLTCHASQNIDVWLSWFQQKP GNIPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTGFTLTISSLQPE DIATYYCQQAHSYPFTFGGGTKLEIKGGSGSSGSGGDIQM TQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKA PKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVA TYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGSGSSGSGGRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	**SEQ ID NO: 82**
Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 13		
Cadena pesada A	**HC:** gaggtgcagctgaaggagagcggccccggcctggtggcccccggcggcagcc tgagcatcacctgcaccgtgagcggcttcagcctgaccgacagcagcatcaact gggtgcgccagcccccccggcaagggcctggagtggctgggcatgatctggggc gacggccgcatcgactacgccgacgccctgaagagccgcctgagcatcagca aggacagcagcaagagccaggtgttcctggagatgaccagcctgcgcaccga cgacaccgccacctactactgcgcccgcgacggctacttcccctacgccatgga cttctggggccagggcaccagcgtgaccgtgagcagcgccagcaccaagggc cccagcgtgttcccccctggcccctagcagcaagagcacatctggcggcacagcc gccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgagcccgtgacagtgtcctgga actctggcgccctgaccagcggagtgcataccttccctgccgtgctgcagtccagc ggcctgtacagcctgagcagcgtggtcacagtgcccagcagcagcctgggcac ccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagcccagcaacaccaaggtggac aagaaggtggaacccaagagctgcgacaagacccacacctgtccccctgcc ctgcccctgaactgctgggcggaccctccgtgttcctgttcccccaaagcccaag gacaccctgatgatcagccggacccccgaagtgacctgcgtggtggtggacgtg tcccacgaggaccctgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgc ataacgccaagaccaagcccagagaggaacagtacaacagcacctaccggg tggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtaca agtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgcccccatcgagaaaaccatcagc aaggccaagggccagcctagagagccccaagtctgcaccctgccccccagca gagatgagctgaccaagaaccaggtgtccctgagctgcgccgtgaagggcttct accccagcgatatcgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaaca actacaagaccacccccccctgtgctggacagcgacggctcattcttcctggtgtcc aagctgacagtggacaagagccggtggcagcagggcaacgtgttcagctgcag cgtgatgcacgaggccctgcacaaccattacacccagaagtccctgagcctgag ccccggc	**SEQ ID NO: 77**
Cadena ligera A	**LC:** gacatcgtgctgacccagagccctgccagcctggccgtgtctctgggccagaga gccaccatcagctgccgggccagcgagagcgtggacagctacggccagagct acatgcactggtatcagcagaaggccggccagccccccaagctgctgatctacc tggccagcaacctggaaagcggcgtgcccgccagattcagcggcagcggcag cagaaccgacttcaccctgaccatcgaccccgtgcaggccgaggacgccgcca cctactactgccagcagaacgccgaggacagccggaccttcggcggaggcac caagctggaaatcaagggacagcccaaggctgccccctcggtcaccctgttccc cccaagcagcgaggaactgcaggccaacaaggccaccctcgtgtgcctgatca gcgacttctaccctggcgccgtgaccgtggcctggaaggccgatagctctcccgt gaaggccggcgtggaaaccaccacccccagcaagcagagcaacaacaaata	**SEQ ID NO: 78**

	cgccgccagcagctacctgagcctgacccccgagcagtggaagtcccaccggt cctacagctgccaggtcacacacgagggcagcaccgtggaaaagaccgtggc ccccaccgagtgcagc	
Cadena pesada B	**HC :** gaggtgcagctggtggaaagcggcggaggactggtgcagcccggcagaagcc tgagactgagctgcgccgccagcggcttcaccttcgacgactacgccatgcactg ggtccgacaggcccctggcaagggcctggaatgggtgtccgccatcacctggaa cagcggccacatcgactacgccgacagcgtggaaggccggttcaccatcagcc gggacaacgccaagaacagcctgtacctgcagatgaacagcctgcgggccga ggacaccgccgtgtactactgcgccaaggtgtcctacctgagcaccgccagcag cctggactactggggccagggcaccctggtcaccgtgtccagtcaggtccagctg cagcagagcggccctgagctggtcaagcctggcgccagcgtgaagatcagctg caaggccagcggctacagcttcaccagctactggatccactggatcaagcagcg gcctggccagggcctcgagtggatcggcatgatcgaccccagcgacggcgaga cacggctgaaccagagattccagggcagagccaccctgaccgtggacgagag caccagcaccgcctacatgcagctgcggagccccaccagcgaggatagcgcc gtgtattattgcacccggctgaaagagtacggcaactacgacagcttctacttcga cgtgtggggagccggcaccctcgtgacagtgtcctccgcttccaccaagggcccc agcgtgttccctctggcccctagcagcaagagcacatctggcggaacagccgcc ctgggctgcctggtcaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactct ggtgccctgacaagcggagtgcataccttccctgccgtgctgcagagcagcggc ctgtactctctgagcagcgtggtcaccgtgccaagcagcagcctgggcacccag acctacatctgcaacgtgaaccacaagccctccaacaccaaggtggacaagaa ggtggaacccaagagctgcgacaagacccacacctgtcctccctgtcctgcccct gaactgctgggcggaccctccgtgttcctgttccctccaaagcccaaggataccct gatgatcagccggacccctgaagtgacctgcgtggtggtggacgtgtcccacga ggatcccgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcataacgc caagaccaagcccagagaggaacagtacaacagcacctaccgggtggtgtcc gtgctgacagtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaa ggtgtccaacaaggccctgccagcccctatcgagaaaaccatcagcaaggcca agggccagccccgcgagcctcaggtgtacacactgcctccatgccgggacgag ctgaccaagaaccaggtgtccctgtggtgcctcgtgaagggcttctacccctccga tatcgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaacaactacaagacc acccctcccgtgctggacagcgacggctcattcttcctgtacagcaagctgaccgt ggacaagtcccggtggcagcagggcaacgtgttcagctgctctgtgatgcacga ggccctgcacaaccggttcacccagaagtccctgagcctgagccctggc	**SEQ ID NO: 83**
Cadena ligera B	**LC:** gacatccagatgacccagagccccgccagcctgagcgtgtccgtgggcgatac catcaccctgacctgccacgccagccagaacatcgacgtgtggctgagctggttc cagcagaagcccggcaacatccccaagctgctgatctacaaggccagcaacct gcacaccggcgtgcccagcagattcagcggctctggcagcggcaccggctttac cctgaccatcagcagcctgcagcccgaggatatcgccacctactactgccagca ggcccacagctacccttcaccttcggcggaggcaccaagctggaaatcaagg gcggcagcggcagctccggcagcggcggagacattcagatgacacagtcccc cagcagcctgtccgccagcgtgggcgacagagtgaccatcacctgtcgggcca gccagggcatccggaactacctggcctggtatcagcagaaacctggcaaggcc cctaaactgctcatctacgccgccagcacactgcagtctggcgtgccctccagatt ctccggaagcggctccggcaccgatttcaccctgacaatctcatctctgcagcctg aggacgtggccacatattactgccagagatacaacagagccccctacacctttgg ccagggcaccaaggtcgagattaagggcggatccggctccagcggcagcgga ggacgtacggtggccgctccttccgtgttcatcttccctccctccgacgagcagctg	**SEQ ID NO; 84**

	aagtccggcaccgcctccgtggtgtgtctgctgaacaacttctaccctcgggaggc caaggtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagtccggcaactcccaggagt ccgtcaccgagcaggactccaaggacagcacctactccctgtcctccaccctga ccctgtccaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgtgaggtgaccc accagggcctgtccagccctgtgaccaagtccttcaaccggggcgagtgc	
Secuencias de aminoácidos de la proteína de unión 14		
Cadena pesada A	**HC :** QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTSYWIHWIKQR PGQGLEWIGMIDPSDGETRLNQRFQGRATLTVDESTSTA YMQLRSPTSEDSAVYYCTRLKEYGNYDSFYFDVWGAGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG	**SEQ ID NO: 85**
Cadena ligera A	**LC:** DIQMTQSPASLSVSVGDTITLTCHASQNIDVWLSWFQQKP GNIPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTGFTLTISSLQPE DIATYYCQQAHSYPFTFGGGTKLEIKGQPKAAPSVTLFPP SSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVE TTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEG STVEKTVAPTECS	**SEQ ID NO: 86**
Cadena pesada B	**HC:** EVQLKESGPGLVAPGGSLSITCTVSGFSLTDSSINWVRQP PGKGLEWLGMIWGDGRIDYADALKSRLSISKDSSKSQVFL EMTSLRTDDTATYYCARDGYFPYAMDFWGQGTSVTVSS EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNRFTQKSLSLSPG	**SEQ ID NO: 87**
Cadena ligera B	**LC:** IQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPG KAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED VATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGSGSSGSGGDIVL TQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGQSYMHWYQQK AGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVQA EDAATYYCQQNAEDSRTFGGGTKLEIKGGSGSSGSGGRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK	**SEQ ID NO: 88**

	VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 14		
Cadena pesada A	**HC:** caggtgcagctgcagcagagcggccccgagctggtgaagcccggcgccagcg tgaagatcagctgcaaggccagcggctacagcttcaccagctactggattcactg gatcaagcagcgccccggccagggcctggagtggatcggcatgatcgacccca gcgacggcgagacccgcctgaaccagcgcttccagggccgcgccaccctgac cgtggacgagagcaccagcaccgcctacatgcagctgcgcagccccaccagc gaggacagcgccgtgtactactgcacccgcctgaaggagtacggcaactacga cagcttctacttcgacgtgtggggcgccggcaccctggtgaccgtgagcagcgcc agcaccaagggccccagcgtgttccccctggcccctagcagcaagagcacatct ggcggcacagccgccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgagcccgtg acagtgtcctggaactctggcgccctgaccagcggagtgcataccttccctgccgt gctgcagtccagcggcctgtacagcctgagcagcgtggtcacagtgcccagcag cagcctgggcacccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagcccagcaaca ccaaggtggacaagaaggtggaacccaagagctgcgacaagacccacacct gtccccctgccctgcccctgaactgctgggcggaccctccgtgttcctgttccccc caaagcccaaggacaccctgatgatcagccggaccccgaagtgacctgcgtg gtggtggacgtgtcccacgaggaccctgaagtgaagttcaattggtacgtggacg gcgtggaagtgcataacgccaagaccaagcccagagaggaacagtacaaca gcacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggactggctgaacgg caaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgcccccatcgaga aaaccatcagcaaggccaagggccagcctagagagccccaagtctgcaccct gccccccagcagagatgagctgaccaagaaccaggtgtccctgagctgcgccg tgaagggcttctaccccagcgatatcgccgtggaatgggagagcaacggccag cccgagaacaactacaagaccacccccctgtgctggacagcgacggctcattc ttcctggtgtccaagctgacagtggacaagagccggtggcagcagggcaacgtg ttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgcacaaccattacacccagaagtcc ctgagcctgagccccggc	**SEQ ID NO: 89**
Cadena ligera A	**LC:** gacatccagatgacccagagccccgccagcctgagcgtgtccgtgggcgatac catcaccctgacctgccacgccagccagaacatcgacgtgtggctgagctggttc cagcagaagcccggcaacatccccaagctgctgatctacaaggccagcaacct gcacaccggcgtgcccagcagattcagcggctctggcagcggcaccggctttac cctgaccatcagcagcctgcagcccgaggatatcgccacctactactgccagca ggcccacagctacccctcaccttcggcggaggcaccaagctggaaatcaagg gacagcccaaggctgcccctcggtcaccctgttcccccaagctctgaggaact gcaggccaacaaggccaccctcgtgtgcctgatcagcgacttctacctggcgcc gtgaccgtggcctggaaggccgatagctctcccgtgaaggccggcgtggaaacc accacccccagcaagcagagcaacaacaaatacgccgccagcagctacctga gcctgacccccgagcagtggaagtcccaccggtcctacagctgccaggtcacac acgagggcagcaccgtggaaaagaccgtggcccccaccgagtgcagc	**SEQ ID NO: 90**
Cadena pesada B	**HC :** gaggtgcagctgaaagagtccggccctggactggtggccctggcggcagcctg agcatcacctgtaccgtgtccggcttcagcctgaccgacagcagcatcaactggg tccgacagcccctggcaagggcctggaatggctgggcatgatctggggcgacg gccggatcgactacgccgacgccctgaagtcccggctgagcatcagcaaggac agcagcaagagccaggtgttcctggaaatgaccagcctgcggaccgacgacac cgccacctactactgcgccagggacggctacttcccctacgccatggatttctggg gccagggcaccagcgtgaccgtgtcctccgaagtgcagctggtggaaagcggc	**SEQ ID NO: 91**

	ggaggcctggtgcagcccggcagaagcctgagactgagctgcgccgccagcg gcttcaccttcgacgactacgccatgcactgggtccgccaggctcccggaaagg gactcgagtgggtgtccgccatcacctggaacagcggccacatcgattacgccg atagcgtggaaggccggttcaccatcagccgggacaacgccaagaacagcctg tacctgcagatgaacagcctgagagccgaggataccgccgtgtactactgtgcca aggtgtcctacctgagcaccgccagcagcctggactactggggacagggaacc ctggtcaccgtgtccagcgcttccaccaagggccccagcgtgttccctctggcccc tagcagcaagagcacatctggcggaacagccgccctgggctgcctggtcaagg actactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggtgccctgacaagcgga gtgcataccttccctgccgtgctgcagagcagcggcctgtactctctgagcagcgt ggtcaccgtgccaagcagcagcctgggcacccagacctacatctgcaacgtga accacaagccctccaacaccaaggtggacaagaaggtggaacccaagagctg cgacaagacccacacctgtcctccctgtcctgcccctgaactgctgggcggaccc tccgtgttcctgttccctccaaagcccaaggataccctgatgatcagccggacccct gaagtgacctgcgtggtggtggacgtgtcccacgaggatcccgaagtgaagttca attggtacgtggacggcgtggaagtgcataacgccaagaccaagcccagagag gaacagtacaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgacagtgctgcaccag gactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcc agcccctatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggccagccccgcgagcct caggtgtacacactgcctccatgccgggacgagctgaccaagaaccaggtgtcc ctgtggtgcctcgtgaagggcttctacccctccgatatcgccgtggaatgggagag caacggccagcccgagaacaactacaagaccaccctcccgtgctggacagc gacggctcattcttcctgtacagcaagctgaccgtggacaagtcccggtggcagc agggcaacgtgttcagctgctctgtgatgcacgaggccctgcacaaccggttcac ccagaagtccctgagcctgagccctggc	
Cadena ligera B	**LC:** gacatccagatgacccagagccccagcagcctgagcgccagcgtgggcgaca gagtgaccatcacctgtcgggccagccagggcatccggaactacctggcctggt atcagcagaagcccggcaaggcccccaagctgctgatctacgccgccagcaca ctgcagagcggcgtgcccagcagattcagcggcagcggctccggcaccgactt caccctgaccatcagcagcctgcagcccgaggacgtggccacctactactgcca gcggtacaacagagccccctacaccttcggccagggcaccaaggtggaaatca agggcggctctggcagctccggctctggcggcgatatcgtgctgacccagtctcc cgccagcctggccgtgtctctgggccagagagccaccatcagctgcagagcca gcgagagcgtggacagctacggccagagctacatgcattggtatcagcagaaa gccggccagcctcctaaactgctcatctacctggccagcaacctggaatccggcg tgcccgccaggttttccggcagcggcagcagaaccgatttcacactgacaatcga ccccgtgcaggccgaggatgccgccacatattactgtcagcagaacgccgagg acagccggaccttcggcggaggcaccaagctcgagattaagggcggaagcgg ctccagcggcagtggcggacgtacggtggccgctccttccgtgttcatcttccctcc ctccgacgagcagctgaagtccggcaccgcctccgtggtgtgtctgctgaacaac ttctaccctcgggaggccaaggtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagtcc ggcaactcccaggagtccgtcaccgagcaggactccaaggacagcacctactc cctgtcctccaccctgaccctgtccaaggccgactacgagaagcacaaggtgtac gcctgtgaggtgacccaccagggcctgtccagccctgtgaccaagtccttcaacc ggggcgagtgc	**SEQ ID NO: 92**
Secuencias de aminoácidos de la proteína de unión 15		
Cadena pesada A	**HC :** QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTSYWIHWIKQR PGQGLEWIGMIDPSDGETRLNQRFQGRATLTVDESTSTA YMQLRSPTSEDSAVYYCTRLKEYGNYDSFYFDVWGAGTL	**SEQ ID NO: 85**

	VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG	
Cadena ligera A	**LC:** DIQMTQSPASLSVSVGDTITLTCHASQNIDVWLSWFQQKP GNIPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTGFTLTISSLQPE DIATYYCQQAHSYPFTFGGGTKLEIKGQPKAAPSVTLFPP SSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVE TTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEG STVEKTVAPTECS	**SEQ ID NO: 86**
Cadena pesada B	**HC:** EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVR QAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNS LYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLV TVSSEVQLKESGPGLVAPGGSLSITCTVSGFSLTDSSINW VRQPPGKGLEWLGMIWGDGRIDYADALKSRLSISKDSSKS QVFLEMTSLRTDDTATYYCARDGYFPYAMDFWGQGTSVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNRFTQKSLSLSPG	**SEQ ID NO: 93**
Cadena ligera B	**LC:** DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGQSYMHWY QQKAGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTIDP VQAEDAATYYCQQNAEDSRTFGGGTKLEIKGGSGSSGSG GDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQK PGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGSGSSGSGGRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	**SEQ ID NO: 94**
Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 15		
Cadena pesada A	**HC:** caggtgcagctgcagcagagcggccccgagctggtgaagcccggcgccagcg tgaagatcagctgcaaggccagcggctacagcttcaccagctactggattcactg gatcaagcagcgccccggccagggcctggagtggatcggcatgatcgacccca gcgacggcgagacccgcctgaaccagcgcttccagggccgcgccaccctgac cgtggacgagagcaccagcaccgcctacatgcagctgcgcagccccaccagc gaggacagcgccgtgtactactgcacccgcctgaaggagtacggcaactacga cagcttctacttcgacgtgtggggcgccggcaccctggtgaccgtgagcagcgcc	**SEQ ID NO: 89**

	agcaccaagggccccagcgtgttccccctggcccctagcagcaagagcacatct ggcggcacagccgccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgagcccgtg acagtgtcctggaactctggcgccctgaccagcggagtgcataccttccctgccgt gctgcagtccagcggcctgtacagcctgagcagcgtggtcacagtgcccagcag cagcctgggcacccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagcccagcaac accaaggtggacaagaaggtggaacccaagagctgcgacaagacccacacc tgtccccctgccctgcccctgaactgctgggcggaccctccgtgttcctgttccccc caaagcccaaggacaccctgatgatcagccggacccccgaagtgacctgcgtg gtggtggacgtgtcccacgaggaccctgaagtgaagttcaattggtacgtggacg gcgtggaagtgcataacgccaagaccaagcccagagaggaacagtacaaca gcacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggactggctgaacgg caaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgcccccatcgaga aaaccatcagcaaggccaagggccagcctagagagccccaagtctgcaccct gccccccagcagagatgagctgaccaagaaccaggtgtccctgagctgcgccg tgaagggcttctaccccagcgatatcgccgtggaatgggagagcaacggccag cccgagaacaactacaagaccacccccccctgtgctggacagcgacggctcattc ttcctggtgtccaagctgacagtggacaagagccggtggcagcagggcaacgtg ttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgcacaaccattacacccagaagtcc ctgagcctgagccccggc	
Cadena ligera A	**LC:** gacatccagatgacccagagccccgccagcctgagcgtgtccgtgggcgatac catcaccctgacctgccacgccagccagaacatcgacgtgtggctgagctggttc cagcagaagcccggcaacatccccaagctgctgatctacaaggccagcaacct gcacaccggcgtgcccagcagattcagcggctctggcagcggcaccggctttac cctgaccatcagcagcctgcagcccgaggatatcgccacctactactgccagca ggcccacagctacccctcaccttcggcggaggcaccaagctggaaatcaagg gacagcccaaggctgccccctcggtcaccctgttcccccaagctctgaggaact gcaggccaacaaggccaccctcgtgtgcctgatcagcgacttctaccctggcgcc gtgaccgtggcctggaaggccgatagctctcccgtgaaggccggcgtggaaac caccacccccagcaagcagagcaacaacaaatacgccgccagcagctacctg agcctgacccccgagcagtggaagtcccaccggtcctacagctgccaggtcac acacgagggcagcaccgtggaaaagaccgtggcccccaccgagtgcagc	**SEQ ID NO: 90**
Cadena pesada B	**HC :** gaggtgcagctggtggaaagcggcggaggactggtgcagcccggcagaagcc tgagactgagctgcgccgccagcggcttcaccttcgacgactacgccatgcactg ggtccgacaggcccctggcaagggcctggaatgggtgtccgccatcacctggaa cagcggccacatcgactacgccgacagcgtggaaggccggttcaccatcagcc gggacaacgccaagaacagcctgtacctgcagatgaacagcctgcgggccga ggacaccgccgtgtactactgcgccaaggtgtcctacctgagcaccgccagcag cctggactactggggccagggcaccctggtcaccgtgtcctccgaagtgcagctg aaagagtccggccctggcctggtggcccctggcggcagcctgagcatcacctgt accgtgtccggcttcagcctgaccgacagcagcatcaactgggtccgccagcctc ccggaaagggactcgagtggctgggcatgatctggggcgacggccggatcgatt acgccgatgccctgaagtcccggctgagcatcagcaaggacagcagcaagag ccaggtgttcctggaaatgaccagcctgagaaccgacgacaccgccacctacta ctgtgcccgggacggctacttcccctacgccatggatttctggggacagggaacc agcgtgaccgtgtccagcgcttccaccaagggccccagcgtgttccctctggccc ctagcagcaagagcacatctggcggaacagccgccctgggctgcctggtcaag gactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggtgccctgacaagcgg agtgcataccttccctgccgtgctgcagagcagcggcctgtactctctgagcagcg tggtcaccgtgccaagcagcagcctgggcacccagacctacatctgcaacgtga	**SEQ ID NO: 95**

	accacaagccctccaacaccaaggtggacaagaaggtggaacccaagagct gcgacaagacccacacctgtcctccctgtcctgcccctgaactgctgggcggacc ctccgtgttcctgttccctccaaagcccaaggataccctgatgatcagccggaccc ctgaagtgacctgcgtggtggtggacgtgtcccacgaggatcccgaagtgaagtt caattggtacgtggacggcgtggaagtgcataacgccaagaccaagcccagag aggaacagtacaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgacagtgctgcacc aggactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctg ccagcccctatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggccagccccgcgag cctcaggtgtacacactgcctccatgccgggacgagctgaccaagaaccaggtg tccctgtggtgcctcgtgaagggcttctacccctccgatatcgccgtggaatgggag agcaacggccagcccgagaacaactacaagaccacccctcccgtgctggaca gcgacggctcattcttcctgtacagcaagctgaccgtggacaagtcccggtggca gcagggcaacgtgttcagctgctctgtgatgcacgaggccctgcacaaccggttc acccagaagtccctgagcctgagccctggc	
Cadena ligera B	**LC:** gacatcgtgctgacccagagccctgccagcctggccgtgtctctgggccagaga gccaccatcagctgccgggccagcgagagcgtggacagctacggccagagct acatgcactggtatcagcagaaggccggccagccccccaagctgctgatctacc tggccagcaacctggaaagcggcgtgcccgccagattcagcggcagcggcag cagaaccgacttcaccctgaccatcgaccccgtgcaggccgaggacgccgcca cctactactgccagcagaacgccgaggacagccggaccttcggcggaggcac caagctggaaatcaagggcggctccggcagcagcggctctggcggcgatatcc agatgacccagtcccccagcagcctgagcgccagcgtgggcgacagagtgac catcacctgtagagccagccagggcatccggaactacctggcttggtatcagcag aaacccggaaaggcccctaaactgctcatctacgccgccagcaccctgcagtcc ggcgtgccaagcagattctccggctctggcagcggcaccgatttcacactgacaa tcagcagcctgcagcccgaggatgtggccacctattattgccagagatacaaca gagccccctacaccttcggccagggcaccaaggtcgagattaagggcggaagc ggcagctccggctccggcggacgtacggtggccgctccttccgtgttcatcttccct ccctccgacgagcagctgaagtccggcaccgcctccgtggtgtgtctgctgaaca acttctaccctcgggaggccaaggtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagt ccggcaactcccaggagtccgtcaccgagcaggactccaaggacagcaccta ctccctgtcctccaccctgaccctgtccaaggccgactacgagaagcacaaggtg tacgcctgtgaggtgacccaccagggcctgtccagccctgtgaccaagtccttca accggggcgagtgc	**SEQ ID NO: 96**
Secuencias de aminoácidos de la proteína de unión16		
Cadena pesada A	**HC :** EVQLKESGPGLVAPGGSLSITCTVSGFSLTDSSINWVRQP PGKGLEWLGMIWGDGRIDYADALKSRLSISKDSSKSQVFL EMTSLRTDDTATYYCARDGYFPYAMDFWGQGTSVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	**SEQ ID NO: 73**
Cadena ligera A	**LC:**	**SEQ ID NO: 74**

	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGQSYMHWY QQKAGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTIDP VQAEDAATYYCQQNAEDSRTFGGGTKLEIKGQPKAAPSV TLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPV KAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQ VTHEGSTVEKTVAPTECS	
Cadena pesada B	**HC:** EVQLKESGPGLVAPGGSLSITCTVSGFSLTDSSINWVRQP PGKGLEWLGMIWGDGRIDYADALKSRLSISKDSSKSQVFL EMTSLRTDDTATYYCARDGYFPYAMDFWGQGTSVTVSS QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTSYWIHWIKQR PGQGLEWIGMIDPSDGETRLNQRFQGRATLTVDESTSTA YMQLRSPTSEDSAVYYCTRLKEYGNYDSFYFDVWGAGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNRFTQKSLSLSPG	**SEQ ID NO: 68**
Cadena ligera B	**LC:** DIQMTQSPASLSVSVGDTITLTCHASQNIDVWLSWFQQKP GNIPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTGFTLTISSLQPE DIATYYCQQAHSYPFTFGGGTKLEIKGGSGSSGSGGDIVL TQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGQSYMHWYQQK AGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVQA EDAATYYCQQNAEDSRTFGGGTKLEIKGGSGSSGSGGRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	**SEQ ID NO: 69**
Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 16		
Cadena pesada A	**HC:** gaggtgcagctgaaggagagcggccccggcctggtggcccccggcggcagcc tgagcatcacctgcaccgtgagcggcttcagcctgaccgacagcagcatcaact gggtgcgccagcccccccggcaagggcctggagtggctgggcatgatctggggc gacggccgcatcgactacgccgacgccctgaagagccgcctgagcatcagca aggacagcagcaagagccaggtgttcctggagatgaccagcctgcgcaccga cgacaccgccacctactactgcgcccgcgacggctacttcccctacgccatgga cttctggggccagggcaccagcgtgaccgtgagcagcgccagcaccaagggc cccagcgtgttccccctggcccctagcagcaagagcacatctggcggcacagcc gccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgagcccgtgacagtgtcctgga actctggcgccctgaccagcggagtgcataccttccctgccgtgctgcagtccagc ggcctgtacagcctgagcagcgtggtcacagtgcccagcagcagcctgggcac ccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagcccagcaacaccaaggtggac aagaaggtggaacccaagagctgcgacaagacccacacctgtccccctgcc ctgcccctgaactgctgggcggaccctccgtgttcctgttcccccaaagcccaag gacaccctgatgatcagccggaccccgaagtgacctgcgtggtggtggacgtg tcccacgaggaccctgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgc ataacgccaagaccaagcccagagaggaacagtacaacagcacctaccggg	**SEQ ID NO: 77**

	tggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtaca agtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgcccccatcgagaaaaccatcagc aaggccaagggccagcctagagagccccaagtctgcaccctgccccccagca gagatgagctgaccaagaaccaggtgtccctgagctgcgccgtgaagggcttct accccagcgatatcgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaaca actacaagaccacccccccctgtgctggacagcgacggctcattcttcctggtgtcc aagctgacagtggacaagagccggtggcagcagggcaacgtgttcagctgcag cgtgatgcacgaggccctgcacaaccattacacccagaagtccctgagcctgag ccccggc	
Cadena ligera A	**LC:** gacatcgtgctgacccagagccctgccagcctggccgtgtctctgggccagaga gccaccatcagctgccgggccagcgagagcgtggacagctacggccagagct acatgcactggtatcagcagaaggccggccagccccccaagctgctgatctacc tggccagcaacctggaaagcggcgtgcccgccagattcagcggcagcggcag cagaaccgacttcaccctgaccatcgaccccgtgcaggccgaggacgccgcca cctactactgccagcagaacgccgaggacagccggaccttcggcggaggcac caagctggaaatcaagggacagcccaaggctgccccctcggtcaccctgttccc cccaagcagcgaggaactgcaggccaacaaggccaccctcgtgtgcctgatca gcgacttctaccctggcgccgtgaccgtggcctggaaggccgatagctctcccgt gaaggccggcgtggaaaccaccacccccagcaagcagagcaacaacaaata cgccgccagcagctacctgagcctgacccccgagcagtggaagtcccaccggt cctacagctgccaggtcacacacgagggcagcaccgtggaaaagaccgtggc ccccaccgagtgcagc	**SEQ ID NO: 78**
Cadena pesada B	**HC :** gaggtgcagctgaaagagtccggccctggactggtggcccctggcggcagcct gagcatcacctgtaccgtgtccggcttcagcctgaccgacagcagcatcaactgg gtccgacagccccctggcaagggcctggaatggctgggcatgatctggggcga cggccggatcgactacgccgacgccctgaagtcccggctgagcatcagcaagg acagcagcaagagccaggtgttcctggaaatgaccagcctgcggaccgacga caccgccacctactactgcgccagggacggctacttcccctacgccatggatttct ggggccagggcaccagcgtgaccgtgtccagtcaggtccagctgcagcagagc ggccctgagctggtcaagcctggcgccagcgtgaagatcagctgcaaggccag cggctacagcttcaccagctactggatccactggatcaagcagcggcctggcca gggcctcgagtggatcggaatgatcgaccccagcgacggcgagacacggctg aaccagagattccagggcagagccaccctgaccgtggacgagagcaccagca ccgcctacatgcagctgcggagccccaccagcgaggacagcgccgtgtactac tgcacccggctgaaagaatacggcaactacgacagcttctacttcgacgtgtggg gagccggcaccctggtcaccgtgtctagcgcttccaccaagggccccagcgtgtt ccctctggcccctagcagcaagagcacatctggcggaacagccgccctgggct gcctggtcaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggtgcc ctgacaagcggagtgcataccttccctgccgtgctgcagagcagcggcctgtact ctctgagcagcgtggtcaccgtgccaagcagcagcctgggcacccagacctac atctgcaacgtgaaccacaagccctccaacaccaaggtggacaagaaggtgg aacccaagagctgcgacaagacccacacctgtcctccctgtcctgcccctgaact gctgggcggaccctccgtgttcctgttccctccaaagcccaaggataccctgatga tcagccggacccctgaagtgacctgcgtggtggtggacgtgtcccacgaggatcc cgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcataacgccaagac caagcccagagaggaacagtacaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctga cagtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtcc aacaaggccctgccagcccctatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggcc agccccgcgagcctcaggtgtacacactgcctccatgccgggacgagctgacc	**SEQ ID NO: 97**

	aagaaccaggtgtccctgtggtgcctcgtgaagggcttctacccctccgatatcgc cgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaacaactacaagaccacccct cccgtgctggacagcgacggctcattcttcctgtacagcaagctgaccgtggaca agtcccggtggcagcagggcaacgtgttcagctgctctgtgatgcacgaggccct gcacaaccggttcacccagaagtccctgagcctgagccctggc	
Cadena ligera B	**LC:** gacatccagatgacccagagccccgccagcctgagcgtgtccgtgggcgatac catcaccctgacctgccacgccagccagaacatcgacgtgtggctgagctggttc cagcagaagcccggcaacatccccaagctgctgatctacaaggccagcaacct gcacaccggcgtgcccagcagattcagcggctctggcagcggcaccggctttac cctgaccatcagcagcctgcagcccgaggatatcgccacctactactgccagca ggcccacagctacccccttcaccttcggcggaggcaccaagctggaaatcaagg gcggcagcggcagctccggctctggcggcgatatcgtgctgacccagtctcccg cctccctggccgtgtctctgggccagagagccaccatcagctgccgggccagcg agagcgtggacagctacggccagagctacatgcactggtatcagcagaaggcc ggacagccccctaaactgctcatctacctggcctccaacctggaaagcggcgtg cccgccaggttttccggcagcggctccagaaccgacttcaccctgacaatcgacc ccgtgcaggccgaggacgccgccacatattactgtcagcagaacgccgaggac agcagaacctttggcggcggaacaaagctcgagattaagggcggctccggctc cagcggatctggcggacgtacggtggccgctccttccgtgttcatcttccctccctcc gacgagcagctgaagtccggcaccgcctccgtggtgtgtctgctgaacaacttcta ccctcgggaggccaaggtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagtccggc aactcccaggagtccgtcaccgagcaggactccaaggacagcacctactccct gtcctccaccctgaccctgtccaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgc ctgtgaggtgacccaccagggcctgtccagccctgtgaccaagtccttcaaccgg ggcgagtgc	**SEQ ID NO: 70**
Secuencias de aminoácidos de la proteína de unión 17		
Cadena pesada A	**HC :** QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTSYWIHWIKQR PGQGLEWIGMIDPSDGETRLNQRFQGRATLTVDESTSTA YMQLRSPTSEDSAVYYCTRLKEYGNYDSFYFDVWGAGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG	**SEQ ID NO: 85**
Cadena ligera A	**LC:** DIQMTQSPASLSVSVGDTITLTCHASQNIDVWLSWFQQKP GNIPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTGFTLTISSLQPE DIATYYCQQAHSYPFTFGGGTKLEIKGQPKAAPSVTLFPP SSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVE TTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEG STVEKTVAPTECS	**SEQ ID NO: 86**
Cadena pesada B	**HC:** EVQLKESGPGLVAPGGSLSITCTVSGFSLTDSSINWVRQP PGKGLEWLGMIWGDGRIDYADALKSRLSISKDSSKSQVFL EMTSLRTDDTATYYCARDGYFPYAMDFWGQGTSVTVSS	**SEQ ID NO: 68**

	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTSYWIHWIKQR PGQGLEWIGMIDPSDGETRLNQRFQGRATLTVDESTSTA YMQLRSPTSEDSAVYYCTRLKEYGNYDSFYFDVWGAGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNRFTQKSLSLSPG	
Cadena ligera B	**LC:** DIQMTQSPASLSVSVGDTITLTCHASQNIDVWLSWFQQKP GNIPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTGFTLTISSLQPE DIATYYCQQAHSYPFTFGGGTKLEIKGGSGSSGSGGDIVL TQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGQSYMHWYQQK AGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVQA EDAATYYCQQNAEDSRTFGGGTKLEIKGGSGSSGSGGRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	**SEQ ID NO: 69**
Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 17		
Cadena pesada A	**HC:** caggtgcagctgcagcagagcggccccgagctggtgaagcccggcgccagcg tgaagatcagctgcaaggccagcggctacagcttcaccagctactggattcactg gatcaagcagcgccccggccagggcctggagtggatcggcatgatcgacccca gcgacggcgagacccgcctgaaccagcgcttccagggccgcgccaccctgac cgtggacgagagcaccagcaccgcctacatgcagctgcgcagccccaccagc gaggacagcgccgtgtactactgcacccgcctgaaggagtacggcaactacga cagcttctacttcgacgtgtggggcgccggcaccctggtgaccgtgagcagcgcc agcaccaagggccccagcgtgttccccctggcccctagcagcaagagcacatct ggcggcacagccgccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgagcccgtg acagtgtcctggaactctggcgccctgaccagcggagtgcataccttccctgccgt gctgcagtccagcggcctgtacagcctgagcagcgtggtcacagtgcccagcag cagcctgggcacccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagcccagcaac accaaggtggacaagaaggtggaacccaagagctgcgacaagacccacacc tgtccccctgccctgcccctgaactgctgggcggaccctccgtgttcctgttccccc caaagcccaaggacaccctgatgatcagccggaccccgaagtgacctgcgtg gtggtggacgtgtcccacgaggaccctgaagtgaagttcaattggtacgtggacg gcgtggaagtgcataacgccaagaccaagcccagagaggaacagtacaaca gcacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggactggctgaacgg caaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgcccccatcgaga aaaccatcagcaaggccaagggccagcctagagagccccaagtctgcaccct gccccccagcagagatgagctgaccaagaaccaggtgtccctgagctgcgccg tgaagggcttctaccccagcgatatcgccgtggaatgggagagcaacggccag cccgagaacaactacaagaccacccccccctgtgctggacagcgacggctcattc ttcctggtgtccaagctgacagtggacaagagccggtggcagcagggcaacgtg ttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgcacaaccattacacccagaagtcc ctgagcctgagccccggc	**SEQ ID NO: 89**

Cadena ligera A	**LC:** Gacatccagatgacccagagccccgccagcctgagcgtgtccgtgggcgatac catcaccctgacctgccacgccagccagaacatcgacgtgtggctgagctggttc cagcagaagcccggcaacatccccaagctgctgatctacaaggccagcaacct gcacaccggcgtgcccagcagattcagcggctctggcagcggcaccggctttac cctgaccatcagcagcctgcagcccgaggatatcgccacctactactgccagca ggcccacagctacccttcaccttcggcggaggcaccaagctggaaatcaagg gacagcccaaggctgccccctcggtcaccctgttccccccaagctctgaggaact gcaggccaacaaggccaccctcgtgtgcctgatcagcgacttctaccctggcgcc gtgaccgtggcctggaaggccgatagctctcccgtgaaggccggcgtggaaac caccacccccagcaagcagagcaacaacaaatacgccgccagcagctacctg agcctgacccccgagcagtggaagtcccaccggtcctacagctgccaggtcac acacgagggcagcaccgtggaaaagaccgtggcccccaccgagtgcagc	**SEQ ID NO: 90**
Cadena pesada B	**HC :** gaggtgcagctgaaagagtccggccctggactggtggcccctggcggcagcct gagcatcacctgtaccgtgtccggcttcagcctgaccgacagcagcatcaactgg gtccgacagccccctggcaagggcctggaatggctgggcatgatctggggcga cggccggatcgactacgccgacgccctgaagtcccggctgagcatcagcaagg acagcagcaagagccaggtgttcctggaaatgaccagcctgcggaccgacga caccgccacctactactgcgccagggacggctacttcccctacgccatggatttct ggggccagggcaccagcgtgaccgtgtccagtcaggtccagctgcagcagagc ggccctgagctggtcaagcctggcgccagcgtgaagatcagctgcaaggccag cggctacagcttcaccagctactggatccactggatcaagcagcggcctggcca gggcctcgagtggatcggaatgatcgaccccagcgacggcgagacacggctg aaccagagattccagggcagagccaccctgaccgtggacgagagcaccagca ccgcctacatgcagctgcggagccccaccagcgaggacagcgccgtgtactac tgcacccggctgaaagaatacggcaactacgacagcttctacttcgacgtgtggg gagccggcaccctggtcaccgtgtctagcgcttccaccaagggccccagcgtgtt ccctctggccctagcagcaagagcacatctggcggaacagccgccctgggct gcctggtcaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggtgcc ctgacaagcggagtgcataccttccctgccgtgctgcagagcagcggcctgtact ctctgagcagcgtggtcaccgtgccaagcagcagcctgggcacccagacctac atctgcaacgtgaaccacaagccctccaacaccaaggtggacaagaaggtgg aacccaagagctgcgacaagacccacacctgtcctccctgtcctgcccctgaact gctgggcggaccctccgtgttcctgttccctccaaagcccaaggataccctgatga tcagccggacccctgaagtgacctgcgtggtggtggacgtgtcccacgaggatcc cgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcataacgccaagac caagcccagagaggaacagtacaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctga cagtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtcc aacaaggccctgccagcccctatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggcc agccccgcgagcctcaggtgtacacactgcctccatgccgggacgagctgacc aagaaccaggtgtccctgtggtgcctcgtgaagggcttctaccctccgatatcgc cgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaacaactacaagaccaccct cccgtgctggacagcgacggctcattcttcctgtacagcaagctgaccgtggaca agtcccggtggcagcagggcaacgtgttcagctgctctgtgatgcacgaggccct gcacaaccggttcacccagaagtccctgagcctgagccctggc	**SEQ ID NO: 97**
Cadena ligera B	**LC:** gacatccagatgacccagagccccgccagcctgagcgtgtccgtgggcgatac catcaccctgacctgccacgccagccagaacatcgacgtgtggctgagctggttc cagcagaagcccggcaacatccccaagctgctgatctacaaggccagcaacct gcacaccggcgtgcccagcagattcagcggctctggcagcggcaccggctttac	**SEQ ID NO: 70**

	cctgaccatcagcagcctgcagcccgaggatatcgccacctactactgccagca ggcccacagctacccctcaccttcggcggaggcaccaagctggaaatcaagg gcggcagcggcagctccggctctggcggcgatatcgtgctgacccagtctcccg cctccctggccgtgtctctgggccagagagccaccatcagctgccgggccagcg agagcgtggacagctacggccagagctacatgcactggtatcagcagaaggcc ggacagccccctaaactgctcatctacctggcctccaacctggaaagcggcgtg cccgccaggttttccggcagcggctccagaaccgacttcaccctgacaatcgacc ccgtgcaggccgaggacgccgccacatattactgtcagcagaacgccgaggac agcagaacctttggcggcggaacaaagctcgagattaagggcggctccggctc cagcggatctggcggacgtacggtggccgctccttccgtgttcatcttccctccctcc gacgagcagctgaagtccggcaccgcctccgtggtgtgtctgctgaacaacttcta ccctcgggaggccaaggtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagtccggc aactcccaggagtccgtcaccgagcaggactccaaggacagcacctactccct gtcctccaccctgaccctgtccaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgc ctgtgaggtgacccaccagggcctgtccagccctgtgaccaagtccttcaaccgg ggcgagtgc	
Secuencias de aminoácidos de la proteína de unión 18		
Cadena pesada A	**HC :** EVQLKESGPGLVAPGGSLSITCTVSGFSLTDSSINWVRQP PGKGLEWLGMIWGDGRIDYADALKSRLSISKDSSKSQVFL EMTSLRTDDTATYYCARDGYFPYAMDFWGQGTSVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRD ELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	**SEQ ID NO: 73**
Cadena ligera A	**LC:** DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGQSYMHWY QQKAGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTIDP VQAEDAATYYCQQNAEDSRTFGGGTKLEIKGQPKAAPSV TLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPV KAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQ VTHEGSTVEKTVAPTECS	**SEQ ID NO: 74**
Cadena pesada B	**HC:** QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTSYWIHWIKQR PGQGLEWIGMIDPSDGETRLNQRFQGRATLTVDESTSTA YMQLRSPTSEDSAVYYCTRLKEYGNYDSFYFDVWGAGTL VTVSSEVQLKESGPGLVAPGGSLSITCTVSGFSLTDSSIN WVRQPPGKGLEWLGMIWGDGRIDYADALKSRLSISKDSS KSQVFLEMTSLRTDDTATYYCARDGYFPYAMDFWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN	**SEQ ID NO: 62**

	NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNRFTQKSLSLSPG	
Cadena ligera B	**LC:** DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGQSYMHWY QQKAGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTIDP VQAEDAATYYCQQNAEDSRTFGGGTKLEIKGGSGSSGSG GDIQMTQSPASLSVSVGDTITLTCHASQNIDVWLSWFQQK PGNIPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTGFTLTISSLQP EDIATYYCQQAHSYPFTFGGGTKLEIKGGSGSSGSGGRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	**SEQ ID NO: 63**
Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 18		
Cadena pesada A	**HC:** gaggtgcagctgaaggagagcggccccggcctggtggcccccggcggcagcc tgagcatcacctgcaccgtgagcggcttcagcctgaccgacagcagcatcaact gggtgcgccagcccccccggcaagggcctggagtggctgggcatgatctggggc gacggccgcatcgactacgccgacgccctgaagagccgcctgagcatcagca aggacagcagcaagagccaggtgttcctggagatgaccagcctgcgcaccga cgacaccgccacctactactgcgcccgcgacggctacttcccctacgccatgga cttctggggccagggcaccagcgtgaccgtgagcagcgccagcaccaagggc cccagcgtgttccccctggcccctagcagcaagagcacatctggcggcacagcc gccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgagcccgtgacagtgtcctgga actctggcgccctgaccagcggagtgcataccttccctgccgtgctgcagtccagc ggcctgtacagcctgagcagcgtggtcacagtgcccagcagcagcctgggcac ccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagcccagcaacaccaaggtggac aagaaggtggaacccaagagctgcgacaagacccacacctgtccccctgcc ctgcccctgaactgctgggcggaccctccgtgttcctgttcccccaaagcccaag gacaccctgatgatcagccggacccccgaagtgacctgcgtggtggtggacgtg tcccacgaggaccctgaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgc ataacgccaagaccaagcccagagaggaacagtacaacagcacctaccggg tggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtaca agtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgcccccatcgagaaaaccatcagc aaggccaagggccagcctagagagccccaagtctgcaccctgccccccagca gagatgagctgaccaagaaccaggtgtccctgagctgcgccgtgaagggcttct accccagcgatatcgccgtggaatgggagagcaacggccagcccgagaaca actacaagaccacccccccctgtgctggacagcgacggctcattcttcctggtgtcc aagctgacagtggacaagagccggtggcagcagggcaacgtgttcagctgcag cgtgatgcacgaggccctgcacaaccattacacccagaagtccctgagcctgag ccccggc	**SEQ ID NO: 77**
Cadena ligera A	**LC:** gacatcgtgctgacccagagccctgccagcctggccgtgtctctgggccagaga gccaccatcagctgccgggccagcgagagcgtggacagctacggccagagct acatgcactggtatcagcagaaggccggccagcccccaagctgctgatctacc tggccagcaacctggaaagcggcgtgcccgccagattcagcggcagcggcag cagaaccgacttcaccctgaccatcgaccccgtgcaggccgaggacgccgcca cctactactgccagcagaacgccgaggacagccggaccttcggcggaggcac caagctggaaatcaagggacagcccaaggctgccccctcggtcaccctgttccc cccaagcagcgaggaactgcaggccaacaaggccaccctcgtgtgcctgatca gcgacttctaccctggcgccgtgaccgtggcctggaaggccgatagctctcccgt	**SEQ ID NO:78**

	gaaggccggcgtggaaaccaccacccccagcaagcagagcaacaacaaata cgccgccagcagctacctgagcctgacccccgagcagtggaagtcccaccggt cctacagctgccaggtcacacacgagggcagcaccgtggaaaagaccgtggc ccccaccgagtgcagc	
Cadena pesada B	**HC :** caggtgcagctgcagcagagcggccctgagctggtcaagcctggcgccagcgt gaagatcagctgcaaggccagcggctacagcttcaccagctactggatccactg gatcaagcagcggcctggccagggcctggaatggatcggcatgatcgacccca gcgacggcgagacacggctgaaccagagattccagggcagagccaccctgac cgtggacgagagcaccagcaccgcctacatgcagctgcggagccccaccagc gaggacagcgccgtgtactactgcacccggctgaaagagtacggcaactacga cagcttctacttcgacgtgtggggagccggcaccctggtcaccgtgtccagcgaa gtgcagctgaaagaaagcggccctggcctggtggcccctggcggcagcctgag catcacctgtaccgtgtccggcttcagcctgaccgacagcagcatcaactgggtc cgacagccccctggcaagggcctcgagtggctgggaatgatctggggcgacgg ccggatcgactacgccgacgccctgaagtcccggctgagcatcagcaaggaca gcagcaagagccaggtgttcctggaaatgaccagcctgcggaccgacgacacc gccacctactactgcgccagggacggctacttcccctacgccatggatttctgggg ccagggcaccagcgtgaccgtgtcctctgcttccaccaagggccccagcgtgttc cctctggcccctagcagcaagagcacatctggcggaacagccgccctgggctg cctggtcaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggtgccct gacaagcggagtgcataccttccctgccgtgctgcagagcagcggcctgtactct ctgagcagcgtggtcaccgtgccaagcagcagcctgggcacccagacctacat ctgcaacgtgaaccacaagccctccaacaccaaggtggacaagaaggtggaa cccaagagctgcgacaagacccacacctgtcctccctgtcctgcccctgaactgc tgggcggaccctccgtgttcctgttccctccaaagcccaaggataccctgatgatc agccggacccctgaagtgacctgcgtggtggtggacgtgtcccacgaggatccc gaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcataacgccaagacc aagcccagagaggaacagtacaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgac agtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtcca acaaggccctgccagcccctatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggcca gccccgcgagcctcaggtgtacacactgcctccatgccgggacgagctgacca agaaccaggtgtccctgtggtgcctcgtgaagggcttctacccctccgatatcgcc gtggaatgggagagcaacggccagcccgagaacaactacaagaccacccctc ccgtgctggacagcgacggctcattcttcctgtacagcaagctgaccgtggacaa gtcccggtggcagcagggcaacgtgttcagctgctctgtgatgcacgaggccctg cacaaccggttcacccagaagtccctgagcctgagccctggc	**SEQ ID NO: 66**
Cadena ligera B	**LC:** Gacatcgtgctgacccagagccctgccagcctggccgtgtctctgggccagaga gccaccatcagctgccgggccagcgagagcgtggacagctacggccagagct acatgcactggtatcagcagaaggccggccagccccccaagctgctgatctacc tggccagcaacctggaaagcggcgtgcccgccagattcagcggcagcggcag cagaaccgacttcaccctgaccatcgaccccgtgcaggccgaggacgccgcca cctactactgccagcagaacgccgaggacagccggaccttcggcggaggcac caagctggaaatcaagggcggctccggcagcagcggctctggcggcgatatcc agatgacccagtcccccgcctccctgagcgtgtccgtgggcgacaccatcaccct gacatgccacgccagccagaacatcgacgtgtggctgagctggttccagcaga agcctggcaacatccctaagctgctcatctataaggcctccaacctgcacaccgg cgtgcccagcaggttttccggctctggcagcggcaccggctttaccctgacaatca gcagcctgcagcccgaggatatcgccacatattactgtcagcaggcccacagct acccttcaccttggcggcggaacaaagctcgagattaagggcggcagcgga	**SEQ ID NO: 67**

	agctccggctccggcggacgtacggtggccgctccttccgtgttcatcttccctccct ccgacgagcagctgaagtccggcaccgcctccgtggtgtgtctgctgaacaactt ctaccctcgggaggccaaggtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagtccg gcaactcccaggagtccgtcaccgagcaggactccaaggacagcacctactcc ctgtcctccaccctgaccctgtccaaggccgactacgagaagcacaaggtgtac gcctgtgaggtgacccaccagggcctgtccagccctgtgaccaagtccttcaacc ggggcgagtgc	
Secuencias de aminoácidos de la proteína de unión 19		
Cadena pesada A	**HC :** QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTSYWIHWIKQR PGQGLEWIGMIDPSDGETRLNQRFQGRATLTVDESTSTA YMQLRSPTSEDSAVYYCTRLKEYGNYDSFYFDVWGAGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTL PPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG	**SEQ ID NO: 85**
Cadena ligera A	**LC:** DIQMTQSPASLSVSVGDTITLTCHASQNIDVWLSWFQQKP GNIPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTGFTLTISSLQPE DIATYYCQQAHSYPFTFGGGTKLEIKGQPKAAPSVTLFPP SSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVE TTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEG STVEKTVAPTECS	**SEQ ID NO: 86**
Cadena pesada B	**HC:** QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYSFTSYWIHWIKQR PGQGLEWIGMIDPSDGETRLNQRFQGRATLTVDESTSTA YMQLRSPTSEDSAVYYCTRLKEYGNYDSFYFDVWGAGTL VTVSSEVQLKESGPGLVAPGGSLSITCTVSGFSLTDSSIN WVRQPPGKGLEWLGMIWGDGRIDYADALKSRLSISKDSS KSQVFLEMTSLRTDDTATYYCARDGYFPYAMDFWGQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNRFTQKSLSLSPG	**SEQ ID NO: 62**
Cadena ligera B	**LC:** DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDSYGQSYMHWY QQKAGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSRTDFTLTIDP VQAEDAATYYCQQNAEDSRTFGGGTKLEIKGGSGSSGSG GDIQMTQSPASLSVSVGDTITLTCHASQNIDVWLSWFQQK PGNIPKLLIYKASNLHTGVPSRFSGSGSGTGFTLTISSLQP EDIATYYCQQAHSYPFTFGGGTKLEIKGGSGSSGSGGRT	**SEQ ID NO: 63**

	VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
Secuencias de nucleótidos de la proteína de unión 19		
Cadena pesada A	**HC:** caggtgcagctgcagcagagcggccccgagctggtgaagcccggcgccagcg tgaagatcagctgcaaggccagcggctacagcttcaccagctactggattcactg gatcaagcagcgccccggccagggcctggagtggatcggcatgatcgacccca gcgacggcgagacccgcctgaaccagcgcttccagggccgcgccaccctgac cgtggacgagagcaccagcaccgcctacatgcagctgcgcagccccaccagc gaggacagcgccgtgtactactgcacccgcctgaaggagtacggcaactacga cagcttctacttcgacgtgtggggcgccggcaccctggtgaccgtgagcagcgcc agcaccaagggccccagcgtgttccccctggccctagcagcaagagcacatct ggcggcacagccgccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgagcccgtg acagtgtcctggaactctggcgccctgaccagcggagtgcataccttccctgccgt gctgcagtccagcggcctgtacagcctgagcagcgtggtcacagtgcccagcag cagcctgggcacccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagcccagcaac accaaggtggacaagaaggtggaacccaagagctgcgacaagacccacacc tgtccccctgccctgccctgaactgctgggcggaccctccgtgttcctgttccccc caaagcccaaggacaccctgatgatcagccggacccccgaagtgacctgcgtg gtggtggacgtgtcccacgaggaccctgaagtgaagttcaattggtacgtggacg gcgtggaagtgcataacgccaagaccaagcccagagaggaacagtacaaca gcacctaccgggtggtgtccgtgctgaccgtgctgcaccaggactggctgaacgg caaagagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggccctgcctgcccccatcgaga aaaccatcagcaaggccaagggccagcctagagagccccaagtctgcaccct gccccccagcagagatgagctgaccaagaaccaggtgtccctgagctgcgccg tgaagggcttctaccccagcgatatcgccgtggaatgggagagcaacggccag cccgagaacaactacaagaccacccccccctgtgctggacagcgacggctcattc ttcctggtgtccaagctgacagtggacaagagccggtggcagcagggcaacgtg ttcagctgcagcgtgatgcacgaggccctgcacaaccattacacccagaagtcc ctgagcctgagccccggc	**SEQ ID NO: 89**
Cadena ligera A	**LC:** gacatccagatgacccagagccccgccagcctgagcgtgtccgtgggcgatac catcaccctgacctgccacgccagccagaacatcgacgtgtggctgagctggttc cagcagaagcccggcaacatccccaagctgctgatctacaaggccagcaacct gcacaccggcgtgcccagcagattcagcggctctggcagcggcaccggctttac cctgaccatcagcagcctgcagcccgaggatatcgccacctactactgccagca ggcccacagctacccttcaccttcggcggaggcaccaagctggaaatcaagg gacagcccaaggctgccccctcggtcaccctgttcccccaagctctgaggaact gcaggccaacaaggccaccctcgtgtgcctgatcagcgacttctaccctggcgcc gtgaccgtggcctggaaggccgatagctctcccgtgaaggccggcgtggaaac caccacccccagcaagcagagcaacaacaaatacgccgccagcagctacctg agcctgacccccgagcagtggaagtcccaccggtcctacagctgccaggtcac acacgagggcagcaccgtggaaaagaccgtggcccccaccgagtgcagc	**SEQ ID NO: 90**
Cadena pesada B	**HC :** caggtgcagctgcagcagagcggccctgagctggtcaagcctggcgccagcgt gaagatcagctgcaaggccagcggctacagcttcaccagctactggatccactg gatcaagcagcggcctggccagggcctggaatggatcggcatgatcgacccca gcgacggcgagacacggctgaaccagagattccagggcagagccaccctgac cgtggacgagagcaccagcaccgcctacatgcagctgcggagccccaccagc gaggacagcgccgtgtactactgcacccggctgaaagagtacggcaactacga	**SEQ ID NO: 66**

	cagcttctacttcgacgtgtggggagccggcaccctggtcaccgtgtccagcgaa gtgcagctgaaagaaagcggccctggcctggtggcccctggcggcagcctgag catcacctgtaccgtgtccggcttcagcctgaccgacagcagcatcaactgggtc cgacagccccctggcaagggcctcgagtggctgggaatgatctggggcgacgg ccggatcgactacgccgacgccctgaagtcccggctgagcatcagcaaggaca gcagcaagagccaggtgttcctggaaatgaccagcctgcggaccgacgacacc gccacctactactgcgccagggacggctacttcccctacgccatggatttctgggg ccagggcaccagcgtgaccgtgtcctctgcttccaccaagggccccagcgtgttc cctctggcccctagcagcaagagcacatctggcggaacagccgccctgggctg cctggtcaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgtcctggaactctggtgccct gacaagcggagtgcataccttccctgccgtgctgcagagcagcggcctgtactct ctgagcagcgtggtcaccgtgccaagcagcagcctgggcacccagacctacat ctgcaacgtgaaccacaagccctccaacaccaaggtggacaagaaggtggaa cccaagagctgcgacaagacccacacctgtcctccctgtcctgcccctgaactgc tgggcggaccctccgtgttcctgttccctccaaagcccaaggataccctgatgatc agccggacccctgaagtgacctgcgtggtggtggacgtgtcccacgaggatccc gaagtgaagttcaattggtacgtggacggcgtggaagtgcataacgccaagacc aagcccagagaggaacagtacaacagcacctaccgggtggtgtccgtgctgac agtgctgcaccaggactggctgaacggcaaagagtacaagtgcaaggtgtcca acaaggccctgccagcccctatcgagaaaaccatcagcaaggccaagggcca gccccgcgagcctcaggtgtacacactgcctccatgccgggacgagctgacca agaaccaggtgtccctgtggtgcctcgtgaagggcttctacccctccgatatcgcc gtggaatgggagagcaacggccagcccgagaacaactacaagaccacccctc ccgtgctggacagcgacggctcattcttcctgtacagcaagctgaccgtggacaa gtcccggtggcagcagggcaacgtgttcagctgctctgtgatgcacgaggccctg cacaaccggttcacccagaagtccctgagcctgagccctggc	
Cadena ligera B	**LC:** gacatcgtgctgacccagagccctgccagcctggccgtgtctctgggccagaga gccaccatcagctgccgggccagcgagagcgtggacagctacggccagagct acatgcactggtatcagcagaaggccggccagccccccaagctgctgatctacc tggccagcaacctggaaagcggcgtgcccgccagattcagcggcagcggcag cagaaccgacttcaccctgaccatcgaccccgtgcaggccgaggacgccgcca cctactactgccagcagaacgccgaggacagccggaccttcggcggaggcac caagctggaaatcaagggcggctccggcagcagcggctctggcggcgatatcc agatgacccagtcccccgcctccctgagcgtgtccgtgggcgacaccatcaccct gacatgccacgccagccagaacatcgacgtgtggctgagctggttccagcaga agcctggcaacatccctaagctgctcatctataaggcctccaacctgcacaccgg cgtgcccagcaggttttccggctctggcagcggcaccggctttaccctgacaatca gcagcctgcagcccgaggatatcgccacatattactgtcagcaggcccacagct acccctcaccttggcggcggaacaaagctcgagattaagggcggcagcgga agctccggctccggcggacgtacggtggccgctccttccgtgttcatcttccctccct ccgacgagcagctgaagtccggcaccgcctccgtggtgtgtctgctgaacaactt ctaccctcgggaggccaaggtgcagtggaaggtggacaacgccctgcagtccg gcaactcccaggagtccgtcaccgagcaggactccaaggacagcacctactcc ctgtcctccaccctgaccctgtccaaggccgactacgagaagcacaaggtgtac gcctgtgaggtgacccaccagggcctgtccagccctgtgaccaagtccttcaacc ggggcgagtgc	**SEQ ID NO: 67**

Tabla 4: Secuencias de CDR de proteínas de unión

Ab	CDR_H1	CDR_H2	CDR_H3	CDR_L1	CDR_L2	CDR_L3
Anti–Her2	GFNIKDTY (SEQ ID NO:25)	IYPTNGYT (SEQ ID NO:26)	SRWGGDGFYAMDY (SEQ ID NO:27)	QDVNTA (SEQ ID NO:43)	SAS (SEQ ID NO:44)	QQHYTTPPT (SEQ ID NO:45)
Anti–CD3	GFTFTKAW (SEQ ID NO:34)	IKDKSNS (SEQ ID NO:35)	RGVYYALSPFDY (SEQ ID NO:36)	QSLVHNNANTY (SEQ ID NO:52)	KVS (SEQ ID NO:53)	GQGTQYP (SEQ ID NO:54)
Anti–CD3–2	GFTFTKAW (SEQ ID NO:34)	IKDKSNS (SEQ ID NO:35)	RGVYYALSPFDY (SEQ ID NO:36)	QSLVHNNGNTY (SEQ ID NO:149)	KVS (SEQ ID NO:53)	GQGTQYP (SEQ ID NO:54)
Anti–CD19	GYAFSSYW (SEQ ID NO:37)	IWPGDGDT (SEQ ID NO:38)	ARRETTTVGRYYYAMD (SEQ ID NO:39)	QSVDYDGDSY (SEQ ID NO:55)	DAS (SEQ ID NO:56)	QQSTEDPWT (SEQ ID NO:57)
Anti–CD20	GYTFTSYN (SEQ ID NO:120)	IYPGNGDT (SEQ ID NO:121)	ARSTYYGGDWYFNV (SEQ ID NO:122)	SSVSY (SEQ ID NO:123)	ATS (SEQ ID NO:124)	QQWTSNP (SEQ ID NO:125)
Anti–CD28–1	GYTFTSYY (SEQ ID NO:28)	IYPGNVNT (SEQ ID NO:29)	TRSHYGLDWNFDV (SEQ ID NO:30)	QNIYVW (SEQ ID NO:46)	KAS (SEQ ID NO:47)	QQGQTYPYT (SEQ ID NO:48)
Anti–CD28–2	GFSLSDYG (SEQ ID NO:31)	IWAGGGT (SEQ ID NO:32)	ARDKGYSYYYSMD (SEQ ID NO:33)	ESVEYYVTSL (SEQ ID NO:49)	AAS (SEQ ID NO:50)	QQSRKVPYT (SEQ ID NO:51)
Anti–CD38	GYTFTDYW (SEQ ID NO:40)	IYPGDGDT (SEQ ID NO:41)	ARGDYYGSNSLDY (SEQ ID NO:42)	QDVSTV (SEQ ID NO:58)	SAS (SEQ ID NO:44)	QQHYSPPYT (SEQ ID NO:59)
Anti–LAMP1	GYIFTNYNIH (SEQ ID NO:126)	AIYPGNGDAP (SEQ ID NO:127)	ANWDVAFAY (SEQ ID NO:128)	KASQDIDRYMA (SEQ ID NO:138)	DTSTLQS (SEQ ID NO:139)	LQYDNLWT (SEQ ID NO:140)
Anti–TNFα	GFTFDDYAMH	AITWNSGHID (SEQ ID NO:130)	VSYLSTASSLDY (SEQ ID NO:131)	RASQGIRNYLA (SEQ ID NO:141)	AASTLQS (SEQ ID NO:178)	QRYNRAPYT (SEQ ID NO:142)

	(SEQ ID NO:129)					
Anti–IL4	GYSFTSYWIH (SEQ ID NO:132)	MIDPSDGET (SEQ ID NO:133)	LKEYGNYDSFYFDV (SEQ ID NO:134)	HASQNIDVWLS (SEQ ID NO:143)	KASNLHT (SEQ ID NO:179)	QQAHSYPFT (SEQ ID NO:144)
Anti–IL13	GFSLTDSSIN (SEQ ID NO:135)	MIWGDGRID (SEQ ID NO:136)	DGYFPYAMDF (SEQ ID NO:137)	RASESVDSYGQ SYMH (SEQ ID NO:145)	LASNLES (SEQ ID NO:146)	QQNAEDSRT (SEQ ID NO:147)

Tabla 5: Secuencias VH/VL de proteínas de unión

Ab	VH (proteína)	VL (proteína)
Anti–Her2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS***GFNIKDTY***IHWVRQAPGKGLEWVAR***IYPTNGYT***RYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSR***WGGDGFYAMDY***WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 150)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS***QDVNTA***VAWYQQKPGKAPKLLIY***SAS***FLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC***QQHYTTPPT***FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 151)
Anti–CD3	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS***GFTFTKAW***MHWVRQAPGKQLEWVAQ***IKDKSNS***YATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC***RGVYYALSPFDY***WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 152)	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSS***QSLVHNNANTY***LSWYLQKPGQSPQSLIY***KVS***NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC***GQGTQYP***FTFGSGTKVEIK (SEQ ID NO: 153)
Anti–CD3–2	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAAS***GFTFTKAW***MHWVRQAPGKGLEWVAQ***IKDKSNS***IATIIADSVKGRFTISRDNSKNTLILQMNSLRAEDTAVIICR***GVIIALSPFDN***WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 154)	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSS***QSLVHNNGNTI***LSWILQKPGQSPQLLI***KVS***NRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVIIC***GQGTQIP***FTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 155)
Anti–CD19	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS***GYAFSSYW***MNWVRQAPGQGLEWIGQ***IWPGDGDT***NYNQKFKGRATLTADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC***ARRETTTVGRYYYAMD***YWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 156)	DLVLTQSPASLAVSPGQRATITCKAS***QSVDYDGDSY***LNWYQQKPGQPPKLLIY***DAS***NLVSGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDTANYYC***QQSTEDPWT***FGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 157)
Anti–CD20	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKAS***GYTFTSYN***MHWVKQTPGRGLEWIGA***IYPGNGDT***SYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYC***ARSTYYGGDWYFNV***WGAGTTVTVSA (SEQ ID NO: 158)	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRAS***SSVSY***IHWFQQKPGSSPKPWIY***ATS***NLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYC***QQWTSNP***PTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 159)
Anti–CD28–1	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSCKAS***GYTFTSYY***IHWVRQAPGQGLEWIGS***IYPGNVNT***NYAQKFQGRATLTVDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYC***TRSHYGLDWNFDV***WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 160)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQAS***QNIYVW***LNWYQQKPGKAPKLLIY***KAS***NLHTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDIATYYC***QQGQTYPYT***FGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 161)
Anti–CD28–2	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVS***GFSLSDYG***VHWVRQPPGKGLEWLGV***IWAGGGT***NYNPSLKSRKTISKDTSKNQVSLKLSSVTAADTAVYYC***ARDKGYSYYYSMD***YWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 162)	DIVLTQSPASLAVSPGQRATITCRAS***ESVEYYVTSL***MQWYQQKPGQPPKLLIF***AAS***NVESGVPARFSGSGSGTDFTLTINPVEANDVANYYC***QQSRKVPYT***FGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 163)
Anti–CD38	QVQLVQSGAEVAKPGTSVKLSCKAS***GYTFTDYW***MQWVKQRPGQGLEWIGT***IYPGDGDT***GYAQKFQGKATLTADKSSKTVYMHLSSLASEDSAVYYC***ARGDYYGSNSLDY***WGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 164)	DIVMTQSHLSMSTSLGDPVSITCKAS***QDVSTV***VAWYQQKPGQSPRRLIY***SAS***YRYIGVPDRFTGSGAGTDFTFTISSVQAEDLAVYYC***QQHYSPPYT***FGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 165)

Ab	VH (proteína)	VL (proteína)
Anti–LAMP1	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS***GYIFTNYN***IHWVKKSPGQGLEWIGA***IYPGNGDA***PYSQKFQGKATLTADTSTSTTYMELSSLRSEDTAVYYC***VRANWDVAFAY***WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 166)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKAS***QDIDRY***MAWYQDKPGKAPRLLIH***DTS***TLQSGVPSRFSGSGSGRDYTLTISNLEPEDFATYYC***LQYDNLWT***FGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 167)
Anti–TNFα	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAAS***GFTFDDYA***MHWVRQAPGKGLEWVSA***ITWNSGHI***DYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC***AKVSYLSTASSLDY***WGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 168)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRAS***QGIRNY***LAWYQQKPGKAPKLLIY***AAS***TLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYC***QRYNRAPYT***FGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 169)
Anti–IL4	QVQLQQSGPELVKPGASVKISCKAS***GYSFTSYW***IHWIKQRPGQGLEWIGM***IDPSDGET***RLNQRFQGRATLTVDESTSTAYMQLRSPTSEDSAVYYC***TRLKEYGNYDSFYFDV***WGAGTLVTVSS (SEQ ID NO: 170)	DIQMTQSPASLSVSVGDTITLTCHAS***QNIDVW***LSWFQQKPGNIPKLLIY***KAS***NLHTGVPSRFSGSGSGTGFTLTISSLQPEDIATYYC***QQAHSYPFT***FGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 171)
Anti–IL13	EVQLKESGPGLVAPGGSLSITCTVS***GFSLTDSS***INWVRQPPGKGLEWLGM***IWGDGRID***YADALKSRLSISKDSSKSQVFLEMTSLRTDDTATYYC***ARDGYFPYAMDF***WGQGTSVTVSS (SEQ ID NO: 172)	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRAS***ESVDSYGQSY***MHWYQQKAGQPPKLLIY***LAS***NLESGVPARFSGSGSRTDFTLTIDPVQAEDAATYYC***QQNAEDSRT***FGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 173)

Nota: Las secuencias de CDR están en negrita e itálica en secuencias de los aminoácidos anteriores.