

Solicitudes relacionadas

5 La presente solicitud reivindica el beneficio de prioridad para la Solicitud de Patente Provisional de los EE.UU. N.º 62/592.169, presentada el 29 de noviembre de 2017, cuyo contenido se incorpora como referencia en el presente documento.

10

Antecedentes de la invención

 A pesar de los avances en las técnicas médicas, sigue existiendo una demanda para tratar patologías del sistema
15 hematopoyético, tales como enfermedades de una célula sanguínea particular, trastornos metabólicos, cánceres y afecciones autoinmunitarias, entre otras.

 Aunque las células madre hematopoyéticas tienen un
20 potencial terapéutico significativo, una limitación que ha obstaculizado su uso en la clínica ha sido la dificultad asociada a garantizar el injerto de trasplantes de células madre hematopoyéticas en un hospedador. El sistema inmunitario de un paciente con frecuencia ataca las células trasplantadas
25 y media el rechazo de las células madre hematopoyéticas trasplantadas. Con el fin de evitar el rechazo, el paciente se trata con agentes destructores del sistema inmunitario antes del trasplante de células madre hematopoyéticas, por ejemplo, agentes quimioterápicos o radiación. Desafortunadamente, los
30 esfuerzos para inducir la tolerancia del trasplante de células madre hematopoyéticas en el paciente con frecuencia dan como resultado complicaciones graves. Por tanto, existe la necesidad de nuevas composiciones y métodos para mejorar el trasplante

de células madre hematopoyéticas.

Sumario de la invención

5 Actualmente existe la necesidad de composiciones y métodos para tratar trastornos del sistema hematopoyético, tales como trastornos autoinmunitarios, así como composiciones y métodos para promover el injerto de injertos de células madre hematopoyéticas exógenas de manera que la funcionalidad
10 multipotente y hematopoyética de estas células se conserve después del trasplante.

 En el presente documento se proporcionan composiciones y métodos para el tratamiento directo de diversos trastornos del
15 sistema hematopoyético, trastornos metabólicos, cánceres y enfermedades autoinmunitarias, entre otros. Las composiciones y métodos que se desvelan en el presente documento se dirigen a células inmunitarias para acondicionar un paciente humano para un trasplante de células madre hematopoyéticas para el
20 tratamiento de una enfermedad tal como, pero sin limitación, cáncer hemático o una enfermedad autoinmunitaria.

 En otro aspecto, la invención presenta adicionalmente composiciones y métodos para acondicionar un paciente, tal como
25 un paciente humano, antes de recibir la terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas para promover el injerto de injertos de células madre hematopoyéticas. El paciente puede padecer una enfermedad autoinmunitaria o uno o más trastornos hemáticos, tales como cáncer, hemoglobinopatía u otra patología
30 hematopoyética y, por tanto, necesita un trasplante de células madre hematopoyéticas.

Como se describe en el presente documento, las células madre hematopoyéticas son capaces de diferenciarse en una multitud de tipos celulares en el linaje hematopoyético y pueden administrarse a un paciente para poblar o repoblar un tipo de célula que es deficiente en el paciente.

En determinados aspectos, la invención presenta anticuerpos y conjugados anticuerpo-fármaco que se unen a CD2, así como métodos de administración de los mismos a un paciente para (i) tratar directamente un trastorno hemático, tal como una enfermedad autoinmunitaria, mediante el agotamiento selectivo una población de células inmunitarias que expresan CD2, tales como un linfocito T autorreactivo o linfocito citolítico natural (NK) y/o para (ii) agotar una población de linfocitos T o linfocitos NK antes de la administración de un trasplante de células madre hematopoyéticas al paciente, reduciendo de este modo la probabilidad de rechazo del injerto de células madre hematopoyéticas. La actividad anterior permite el tratamiento directo de una amplia gama de trastornos autoinmunitarios, ya que CD2 puede ser expresado por un linfocito T o un linfocito NK que reacciona de forma cruzada con, y crea una respuesta inmunitaria inapropiada contra, un antígeno propio. La administración de un anticuerpo anti-CD2 o un conjugado anticuerpo-fármaco a un paciente en este caso puede provocar el agotamiento de una población de células autoinmunitarias CD2+, tal como linfocitos T o linfocitos NK que reaccionan de forma cruzada con uno o más antígenos propios, tratando de este modo la patología autoinmunitaria. Esta última actividad facilita la generación de un entorno propicio para el injerto de células madre hematopoyéticas, tales como linfocitos T y/o linfocitos NK que reaccionan de

forma cruzada con uno o más antígenos no propios expresados por una célula madre hematopoyética (p. ej., antígenos del MHC no propios) pueden generar una respuesta inmunitaria contra las células madre hematopoyéticas trasplantadas y, por tanto, promover el rechazo del injerto. En este último caso, los pacientes que padecen un trastorno tal como el cáncer, una enfermedad autoinmunitaria u otra afección del sistema hematopoyético pueden recibir posteriormente un trasplante de células madre hematopoyéticas para, por ejemplo, repoblar una o más poblaciones de células sanguíneas que sean defectuosas o estén agotadas en el paciente. También se proporcionan en el presente documento métodos de tratamiento de una diversidad de afecciones hematopoyéticas, tales como anemia falciforme, talasemia, anemia de Fanconi, síndrome de Wiskott-Aldrich, deficiencia de adenosina desaminasa-inmunodeficiencia combinada grave, leucodistrofia metacromática, anemia de Diamond-Blackfan y síndrome de Schwachman-Diamond, infección por el virus de la inmunodeficiencia humana y síndrome de la inmunodeficiencia adquirida, así como cánceres y enfermedades autoinmunitarias, entre otros.

En un aspecto, la invención proporciona un método para agotar una población de células CD2+, por ejemplo, en un paciente humano, tal como una población de linfocitos T CD2+ y/o linfocitos NK CD2+ en un paciente humano, mediante la administración al paciente de una cantidad eficaz de un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o un conjugado anticuerpo-fármaco que se une a CD2.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para agotar una población de células CD2+ en un paciente humano que

necesite un trasplante de células madre hematopoyéticas, tal como una población de linfocitos T CD2+ y/o linfocitos NK CD2+ en un paciente humano que necesite un trasplante de células madre hematopoyéticas, mediante la administración al paciente de una cantidad eficaz de un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado anticuerpo-fármaco que se une a CD2, por ejemplo, antes de que el paciente reciba un trasplante que incluya células madre hematopoyéticas.

En un aspecto adicional, se proporciona en el presente documento un método para prevenir o reducir la probabilidad de rechazo de un injerto de células madre hematopoyéticas en un paciente humano que necesite terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas mediante la administración, antes de que el paciente reciba un trasplante que incluya células madre hematopoyéticas, de una cantidad eficaz de un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado anticuerpo-fármaco que se une a CD2.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para agotar una población de linfocitos T endógenos en un paciente humano que necesita terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas mediante la administración, antes de que el paciente reciba un trasplante que incluya células madre hematopoyéticas, de una cantidad eficaz de un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado anticuerpo-fármaco que se une a CD2.

En otro aspecto, la invención presenta un método, por ejemplo, para tratar un paciente humano que necesite un trasplante de células madre hematopoyéticas, que incluye

administrar a un paciente humano un trasplante que incluye células madre hematopoyéticas, en donde al paciente se le ha administrado anteriormente un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado anticuerpo-fármaco que se une a CD2. El anticuerpo, fragmento de unión a antígeno del mismo o conjugado anticuerpo-fármaco pueden administrarse al paciente en una cantidad suficiente para agotar una población de células CD2+ en el paciente, tal como una población de linfocitos T CD2+ y/o linfocitos NK CD2+ en el paciente humano.

10

En un aspecto adicional, la invención presenta un método, por ejemplo, para tratar un paciente humano que necesite un trasplante de células madre hematopoyéticas, que incluye: administrar a un paciente humano un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado anticuerpo-fármaco que se une a CD2 en una cantidad suficiente para agotar una población de células CD2+ en el paciente, tal como una población de linfocitos T CD2+ y/o linfocitos NK CD2+ en el paciente y, posteriormente, administrar al paciente un trasplante que incluye células madre hematopoyéticas.

20

En algunas realizaciones de cualquiera de los aspectos anteriores, el anticuerpo anti-CD2, o fragmento de unión a antígeno del mismo, es producido por la línea celular de hibridoma ATCC HB 11423. En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD2, o fragmento de unión a antígeno del mismo, inhibe competitivamente la unión de CD2 a un anticuerpo anti-CD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo producido por la estirpe celular de hibridoma ATCC HB 11423.

25

30

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD2, o

fragmento de unión a antígeno del mismo, contiene las siguientes regiones determinantes de complementariedad (CDR):

- 5 una CDR-H1 que tiene la secuencia de aminoácidos EYYMY (SEQ ID NO: 1);
- una CDR-H2 que tiene la secuencia de aminoácidos RIDPEDGSIDYVEKFKK (SEQ ID NO: 2);
- una CDR-H3 que tiene la secuencia de aminoácidos GKFNYRFAY (SEQ ID NO: 3);
- 10 una CDR-L1 que tiene la secuencia de aminoácidos RSSQSLHSSGNTYLN (SEQ ID NO: 4);
- una CDR-L2 que tiene la secuencia de aminoácidos LVSKLES (SEQ ID NO: 5); y
- una CDR-L3 que tiene la secuencia de aminoácidos MQFTHYPYT
- 15 (SEQ ID NO: 6).

En algunas realizaciones, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, inhibe competitivamente la unión de CD2 a un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende las siguientes CDR:

- una CDR-H1 que tiene la secuencia de aminoácidos EYYMY (SEQ ID NO: 1);
- una CDR-H2 que tiene la secuencia de aminoácidos RIDPEDGSIDYVEKFKK (SEQ ID NO: 2);
- 25 una CDR-H3 que tiene la secuencia de aminoácidos GKFNYRFAY (SEQ ID NO: 3);
- una CDR-L1 que tiene la secuencia de aminoácidos RSSQSLHSSGNTYLN (SEQ ID NO: 4);
- 30 una CDR-L2 que tiene la secuencia de aminoácidos LVSKLES (SEQ ID NO: 5); y

una CDR-L3 que tiene la secuencia de aminoácidos MQFTHYPYT (SEQ ID NO: 6).

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD2, o
5 fragmento de unión a antígeno del mismo, es i) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno del mismo, que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una CDR-H1 como se expone en la SEQ ID NO: 1; una CDR-H2 como se expone en la SEQ ID NO: 2; una CDR-H3 como se expone en la SEQ ID NO:
10 3; y que comprende una región variable de la cadena ligera que comprende una CDR-L1 como se expone en la SEQ ID NO: 4; una CDR-L2 como se expone en la SEQ ID NO: 5; y una CDR-L3 como se expone en la SEQ ID NO: 6; ii) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno del mismo, que comprende una región
15 variable de la cadena pesada que comprende una CDR-H1 como se expone en la SEQ ID NO: 14; una CDR-H2 como se expone en la SEQ ID NO: 15; una CDR-H3 como se expone en la SEQ ID NO: 16 o 17; y que comprende una región variable de la cadena ligera que comprende una CDR-L1 como se expone en la SEQ ID NO: 18;
20 una CDR-L2 como se expone en la SEQ ID NO: 19; y una CDR-L3 como se expone en la SEQ ID NO: 20; iii) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno del mismo, que comprende una región variable de la cadena pesada como se expone en la SEQ ID NO: 7 y que comprende una región variable de la cadena
25 ligera como se expone en la SEQ ID NO: 8; iv) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno del mismo, que comprende una región variable de la cadena pesada como se expone en la SEQ ID NO: 9 y que comprende una región variable de la cadena ligera como se expone en la SEQ ID NO: 10; o v) un anticuerpo
30 anti-CD2, o parte de unión a antígeno del mismo, que comprende una región variable de la cadena pesada como se expone en las

SEQ ID NO: 21 o 22 y que comprende una región variable de la cadena ligera como se expone en la SEQ ID NO: 23.

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD2, o el
5 fragmento de unión a antígeno del mismo, se selecciona entre el grupo que consiste en un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal o fragmento de unión a antígeno del mismo, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo biespecífico, un dominio de inmunoglobulina de doble variable, una molécula
10 Fv monocaténaria (scFv), un diacuerpo, un triacuerpo, un nanocuerpo, un armazón proteínico similar a anticuerpo, un fragmento Fv, un fragmento Fab, una molécula F(ab')₂ y un tándem di-scFv, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos. En algunas realizaciones, el anticuerpo tiene un isotipo
15 seleccionado entre el grupo que consiste en IgG, IgA, IgM, IgD e IgE.

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD2, o fragmento de unión a antígeno, se conjuga con una citotoxina.
20 En algunas realizaciones, la citotoxina se selecciona entre el grupo que consiste en una amatoxina, exotoxina A de *Pseudomonas*, deBouganina, toxina diftérica, saporina, maitansina, un maitansinoide, una auristatina, una antraciclina, una caliqueamicina, irinotecán, SN-38, una
25 duocarmicina, una pirrolobenzodiacepina, un dímero de pirrolobenzodiacepina, una indolinobenzodiacepina y un dímero de indolinobenzodiacepina, o una variante de los mismos.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para
30 agotar una población de células CD2⁺ en un paciente humano, tal como una población de linfocitos T CD2⁺ y/o linfocitos NK

CD2+ en un paciente humano, mediante la administración al paciente de una cantidad eficaz de un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado anticuerpo-fármaco que se une a CD2.

5

En un aspecto adicional, la invención proporciona un método para agotar una población de células CD2+ en un paciente humano que necesite un trasplante de células madre hematopoyéticas, tal como una población de linfocitos T CD2+ y/o linfocitos NK CD2+ en un paciente humano que necesite un trasplante de células madre hematopoyéticas, mediante la administración, antes de que el paciente reciba un trasplante que incluya células madre hematopoyéticas, de una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD2, un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado anticuerpo-fármaco.

En otro aspecto, la invención presenta un método, por ejemplo, para tratar un paciente humano que necesite un trasplante de células madre hematopoyéticas, que incluye administrar a un paciente humano un trasplante que incluye células madre hematopoyéticas, en el que al paciente se le ha administrado anteriormente un anticuerpo, fragmento del mismo o un conjugado anticuerpo-fármaco que se une a CD2 en una cantidad suficiente para agotar una población de células CD2+ en el paciente, tal como una población de linfocitos T CD2+ y/o linfocitos NK CD2+ en el paciente humano.

En un aspecto adicional, la invención presenta un método, por ejemplo, para tratar un paciente humano que necesite un trasplante de células madre hematopoyéticas, que incluye: administrar a un paciente humano un anticuerpo, fragmento del

mismo o un conjugado anticuerpo-fármaco que se une a CD2 en una cantidad suficiente para agotar una población de células CD2+ en el paciente, tal como una población de linfocitos T CD2+ y/o linfocitos NK CD2+ en el paciente y, posteriormente, 5 administrar al paciente un trasplante que incluye células madre hematopoyéticas.

En algunas realizaciones de cualquiera de los cuatro aspectos anteriores, el anticuerpo o fragmento del mismo que 10 se une a CD2 (por ejemplo, en la superficie de un linfocito T CD2+ o linfocito NK CD2+) se une covalentemente a un dominio Fc, tal como un dominio Fc dimérico aislado de un anticuerpo humano (por ejemplo, aislado de un anticuerpo humano de isotipo IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4). En algunas realizaciones, el dominio 15 Fc es un dominio Fc monomérico que contiene una única cadena polipeptídica. En algunas realizaciones, el extremo N-terminal del anticuerpo o fragmento del mismo se une al dominio Fc. En algunas realizaciones, el extremo C del anticuerpo o fragmento del mismo se une al dominio Fc. El dominio Fc puede conjugarse 20 con una o más copias del anticuerpo o fragmento del mismo. Por ejemplo, los conjugados que pueden usarse junto con los métodos que se describen en el presente documento incluyen dominios Fc diméricos en los que cada cadena polipeptídica del dominio Fc se conjuga con el anticuerpo o fragmento del mismo. El dominio 25 Fc puede a su vez conjugarse con una citotoxina, tal como una citotoxina que se describe en el presente documento (por ejemplo, una amatoxina, tal como α -amanitina, exotoxina A de *Pseudomonas*, deBouganina, toxina diftérica, saporina, maitansina, un maitansinoide, una auristatina, una 30 antraciclina, una caliqueamicina, irinotecán, SN-38, una duocarmicina, una pirrolobenzodiacepina, un dímero de

pirrolobenzodiacepina, una indolinobenzodiacepina y un dímero de indolinobenzodiacepina, o una variante de los mismos).

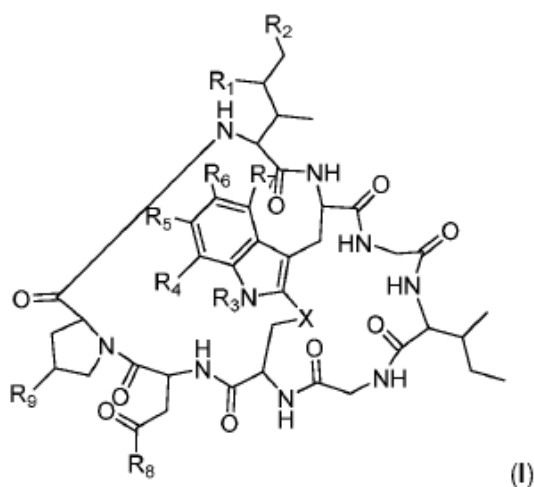
En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD2 o
5 fragmento del mismo se une covalentemente a una citotoxina, tal como una citotoxina que se describe en el presente documento (por ejemplo, una amatoxina, tal como α -amanitina, exotoxina A de *Pseudomonas*, deBouganina, toxina diftérica, saporina, maitansina, un maitansinoide, una auristatina, una
10 antraciclina, una caliqueamicina, irinotecán, SN-38, una duocarmicina, una pirrolobenzodiacepina, un dímero de pirrolobenzodiacepina, una indolinobenzodiacepina y un dímero indolinobenzodiacepina, o una variantes de los mismos). En algunas realizaciones, el extremo N del anticuerpo o fragmento
15 del mismo se une a la citotoxina. En algunas realizaciones, el extremo C del anticuerpo o fragmento del mismo se une a la citotoxina. La citotoxina a su vez puede conjugarse con un dominio Fc.

20 En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD2 o fragmento del mismo se une covalentemente a la citotoxina en un sitio en el anticuerpo o fragmento del mismo (por ejemplo, el extremo N o C del anticuerpo o fragmento del mismo) y se une covalentemente a un dominio Fc en otro sitio en el
25 anticuerpo o fragmento del mismo (por ejemplo, el extremo opuesto del anticuerpo o fragmento del mismo).

En algunas realizaciones, el dominio Fc es un dominio Fc de isotipo IgG1 humano. En algunas realizaciones, el dominio
30 Fc es un dominio Fc de isotipo IgG2 humano. En algunas realizaciones, el dominio Fc es un dominio Fc de isotipo IgG3

humano. En algunas realizaciones, el dominio Fc es un dominio Fc de isotipo IgG4 humano.

En algunas realizaciones de cualquiera de los aspectos anteriores, la citotoxina es una amatoxina o derivado de la misma, tal como α -amanitina, β -amanitina, γ -amanitina, ε -amanitina, amanina, amaninamida, amanulina, ácido amanulínico y proamanulina. En una realización, la citotoxina es una amanitina. En algunas realizaciones de cualquiera de los aspectos anteriores, la citotoxina es una amatoxina y el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, o el anticuerpo conjugado con la citotoxina se representa por la fórmula Ab-Z-L-Am, en donde Ab es el anticuerpo, fragmento de unión a antígeno del mismo, L es un enlazador, Z es un resto químico y Am es la amatoxina. En algunas realizaciones, la amatoxina se conjuga con un enlazador. En algunas realizaciones, el conjugado amatoxina-enlazador Am-L-Z se representa por la fórmula (I)



en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

R_A y R_B , cuando están presentes, junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente sustituido;

R_3 es H, R_C o R_D ;

R_4 es H, OH, OR_C , ORD , R_C o R_D ;

R_5 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_6 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

5 R_7 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C o NR_CR_D ;

R_9 es H, OH, OR_C u OR_D ;

X es -S-, -S(O)- o -SO₂-;

R_C es -L-Z;

10 R_D es alquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquilo C₁-C₆), heteroalquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquilo C₁-C₆), alquenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquenilo C₂-C₆), heteroalquenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenilo C₂-C₆),
 15 alquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinilo C₂-C₆), heteroalquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquinilo C₂-C₆), cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente
 20 sustituido;

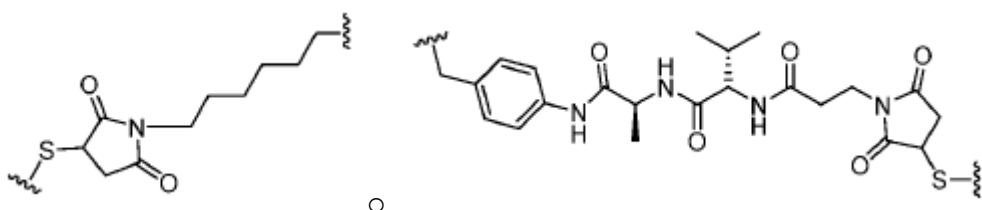
L es un enlazador, tal como alquileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquileno C₁-C₆), heteroalquileno opcionalmente sustituido (heteroalquileno C₁-C₆), alquenileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquenileno C₂-C₆),
 25 heteroalquenileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenileno C₂-C₆), alquinileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinileno C₂-C₆), heteroalquinileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquinileno C₂-C₆),
 30 cicloalquileno opcionalmente sustituido, heterocicloalquileno opcionalmente sustituido, arileno opcionalmente sustituido o heteroarileno opcionalmente

sustituido, un dipéptido, $-C(=O)-$, un péptido o una combinación de los mismos; y

Z es un resto químico formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en L y un sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2, tal como en la superficie de un linfocito T CD2+ o linfocito NK CD2+.

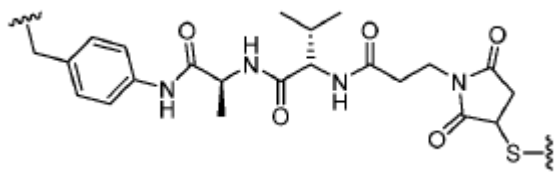
En algunas realizaciones, Am contiene exactamente un sustituyente R_C.

En algunas realizaciones, el enlazador L y el resto químico Z, tomados juntos como L-Z, es

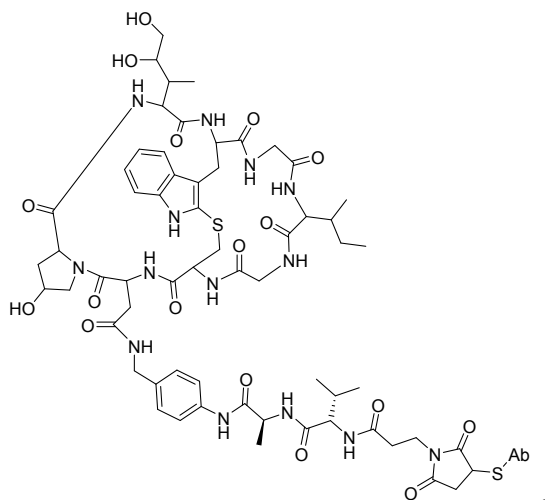


donde S es un átomo de azufre que representa el sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD117 (por ejemplo, del grupo -SH de un resto de cisteína).

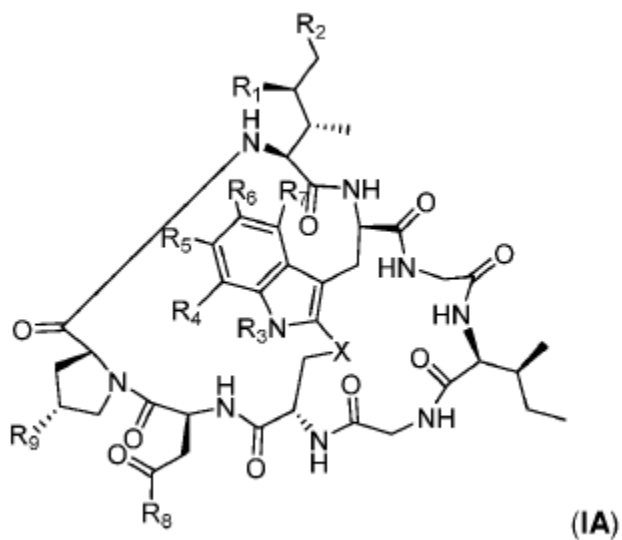
En algunas realizaciones, L-Z es



En algunas realizaciones, Am-L-Z-Ab es:



En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula (IA)



5 en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

R_A y R_B , cuando están presentes, junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente

10 sustituido;

R_3 es H, R_C o R_D ;

R_4 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_5 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_6 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

15 R_7 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C o NR_CR_D ;

R_9 es H, OH, OR_C u OR_D ;

X es -S-, -S(O)- o -SO₂-;

R_C es -L-Z;

R_D es alquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquilo C₁-C₆), heteroalquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquilo C₁-C₆), alquenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquenilo C₂-C₆), heteroalquenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenilo C₂-C₆), alquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinilo C₂-C₆), heteroalquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquinilo C₂-C₆), cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido;

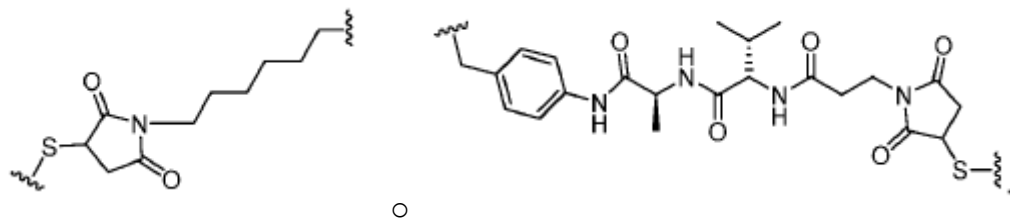
L es un enlazador, tal como alquileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquileno C₁-C₆), heteroalquileno opcionalmente sustituido (heteroalquileno C₁-C₆), alquenileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquenileno C₂-C₆), heteroalquenileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenileno C₂-C₆), alquinileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinileno C₂-C₆), heteroalquinileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquinileno C₂-C₆), cicloalquileno opcionalmente sustituido, heterocicloalquileno opcionalmente sustituido, arileno opcionalmente sustituido, heteroarileno opcionalmente sustituido, un dipéptido, -C(=O)-, un péptido o una combinación de los mismos;

Z es un resto químico formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en L y un sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2, tal como en la superficie de un linfocito T CD2+ o linfocito NK

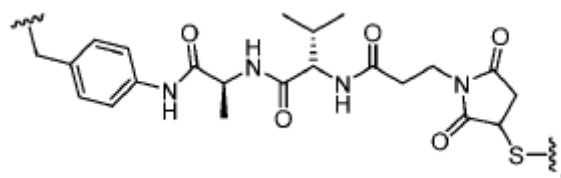
CD2+; y

en donde Am contiene exactamente un sustituyente R_C .

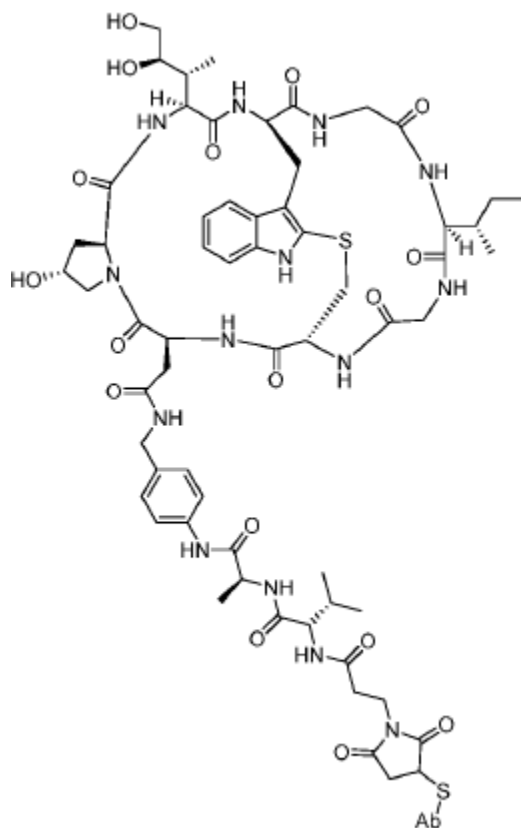
En algunas realizaciones, el enlazador L y el resto químico Z, tomados juntos como L-Z, es



En algunas realizaciones, L-Z es

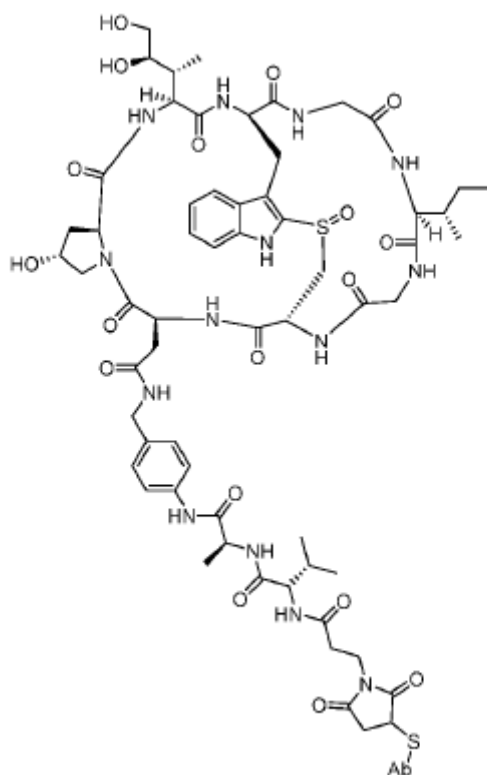


En algunas realizaciones, Am-L-Z-Ab es

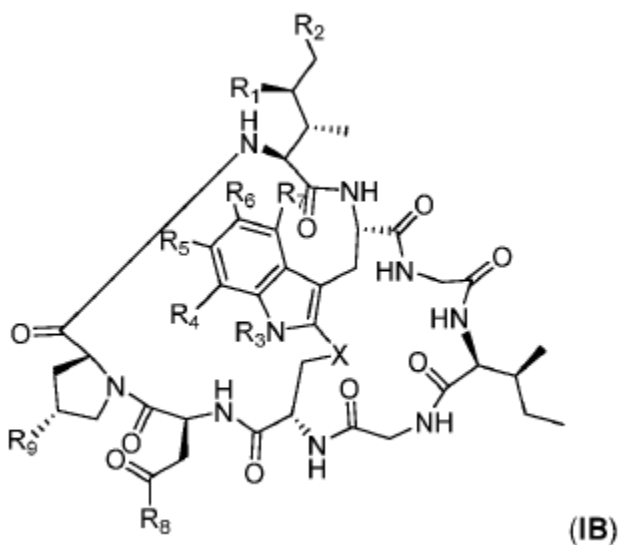


10

En algunas realizaciones, Am-L-Z-Ab es



En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula **(IB)**



5 en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

R_A y R_B , cuando están presentes, junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente

10 sustituido;

R_3 es H, R_C o R_D ;

R_4 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_5 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_6 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_7 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C o NR_CR_D ;

R_9 es H, OH, OR_C u OR_D ;

X es -S-, -S(O)- o -SO₂-;

5 R_C es -L-Z;

R_D es alquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquilo C₁-C₆), heteroalquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquilo C₁-C₆), alquenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquenilo C₂-C₆), heteroalquenilo
 10 opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenilo C₂-C₆), alquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinilo C₂-C₆), heteroalquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquinilo C₂-C₆), cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo
 15 opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido;

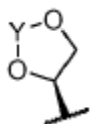
L es un enlazador, tal como alquileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquileno C₁-C₆), heteroalquileno opcionalmente sustituido (heteroalquileno C₁-C₆), alquenileno
 20 opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquenileno C₂-C₆), heteroalquenileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenileno C₂-C₆), alquinileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinileno C₂-C₆), heteroalquinileno
 25 C₆), cicloalquileno opcionalmente sustituido, heterocicloalquileno opcionalmente sustituido, arileno opcionalmente sustituido, heteroarileno opcionalmente sustituido, un dipéptido, -C(=O)-, un péptido o una combinación de los mismos;

30 Z es un resto químico formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en L y un

sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2, tal como en la superficie de un linfocito T CD2+ o linfocito NK CD2+; y

5 en donde Am contiene exactamente un sustituyente R_C .

En algunas realizaciones, R_A y R_B , junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros de fórmula:



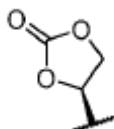
10 en donde Y es $-C(=O)-$, $-C(=S)-$, $-C(=NR_E)-$ o $-C(R_E R_{E'})-$; y R_E y $R_{E'}$ son cada uno independientemente alquilenos C_1-C_6- R_C opcionalmente sustituido, heteroalquilenos $C_1-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, alquenilenos $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, heteroalquenilenos $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, alquinilenos $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, heteroalquinilenos $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, cicloalquileno- R_C opcionalmente sustituido, heterocicloalquileno- R_C opcionalmente sustituido, arileno- R_C opcionalmente sustituido o heteroarileno- R_C opcionalmente sustituido.

20 sustituido.

En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula (**IA**) o la fórmula (**IB**), en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

25 R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

R_A y R_B , cuando están presentes, junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar:



R_3 es H o R_C ;

R_4 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_5 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_6 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

5 R_7 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C o NHR_C ;

R_9 es H u OH; y

en donde X, R_C y R_D son cada uno como se han definido anteriormente.

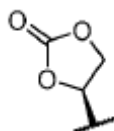
10

En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula (**IA**) o la fórmula (**IB**),

en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

15 R_A y R_B , junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar:



R_3 es H o R_C ;

R_4 y R_5 son cada uno independientemente H, OH, OR_C , R_C u

20 OR_D ;

R_6 y R_7 son cada uno H;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C o NHR_C ;

R_9 es H u OH; y

en donde X y R_C son como se han definido anteriormente.

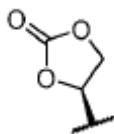
25 En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula (**IA**) o la fórmula (**IB**),

en donde R_1 es H, OH u OR_A ;

R_2 es H, OH u OR_B ;

R_A y R_B , junto con los átomos de oxígeno a los que están

30 unidos, se combinan para formar:



R_3 , R_4 , R_6 y R_7 son cada uno H;

R_5 es OR_C ;

R_8 es OH o NH_2 ;

5 R_9 es H u OH; y

En donde X y R_C son como se han definido anteriormente.

En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula **(IA)** o la fórmula **(IB)**,

en donde R_1 y R_2 son cada uno independientemente H u OH;

10 R_3 es R_C ;

R_4 , R_6 y R_7 son cada uno H;

R_5 es H, OH u O-alquilo C_1-C_6 ;

R_8 es OH o NH_2 ;

R_9 es H u OH; y

15 en donde X y R_C son como se han definido anteriormente.

En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula **(IA)** o la fórmula **(IB)**,

en donde R_1 y R_2 son cada uno independientemente H u OH;

R_3 , R_6 y R_7 son cada uno H;

20 R_4 y R_5 son cada uno independientemente H, OH, OR_C o R_C ;

R_8 es OH o NH_2 ;

R_9 es H u OH; y

en donde X y R_C son como se han definido anteriormente.

En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la

25 fórmula **(IA)** o la fórmula **(IB)**,

en donde R_1 y R_2 son cada uno independientemente H u OH;

R_3 , R_6 y R_7 son cada uno H;

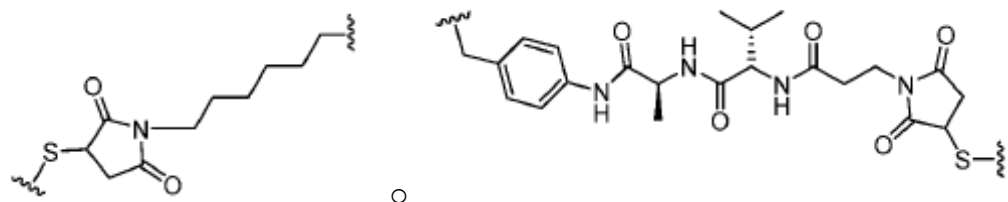
R_4 y R_5 son cada uno independientemente H u OH;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C o NHR_C ;

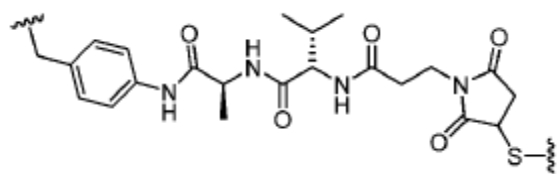
30 R_9 es H u OH; y

en donde X y R_c son como se han definido anteriormente.

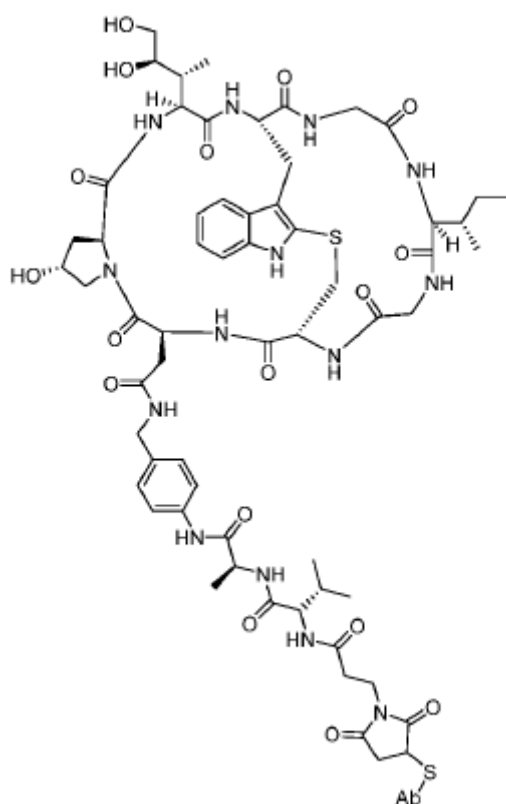
En algunas realizaciones, el enlazador L y el resto químico Z, tomados juntos como L-Z, es



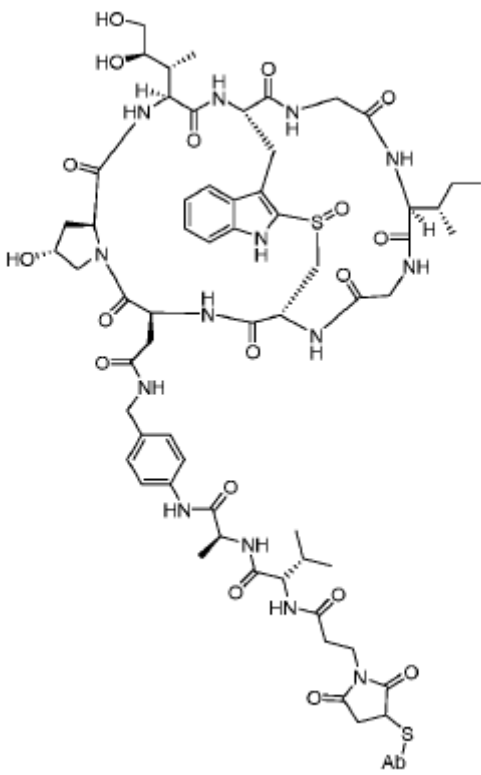
5 En algunas realizaciones, L-Z es



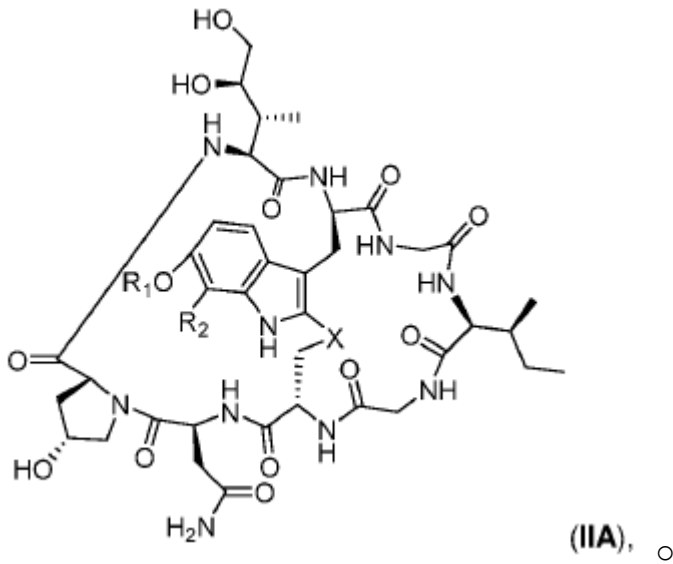
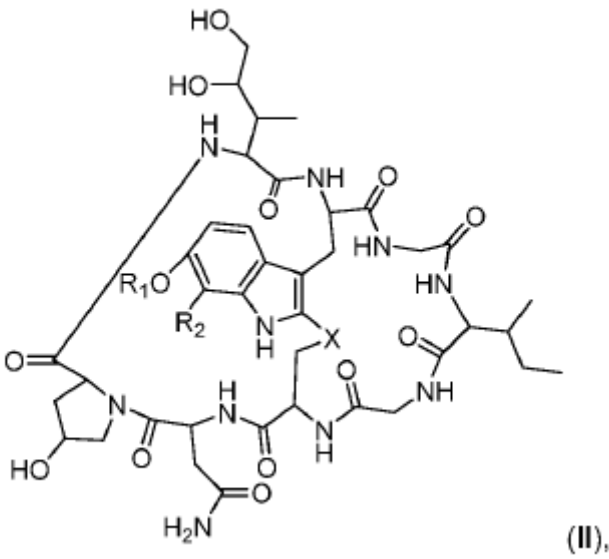
En algunas realizaciones, Am-L-Z-Ab es

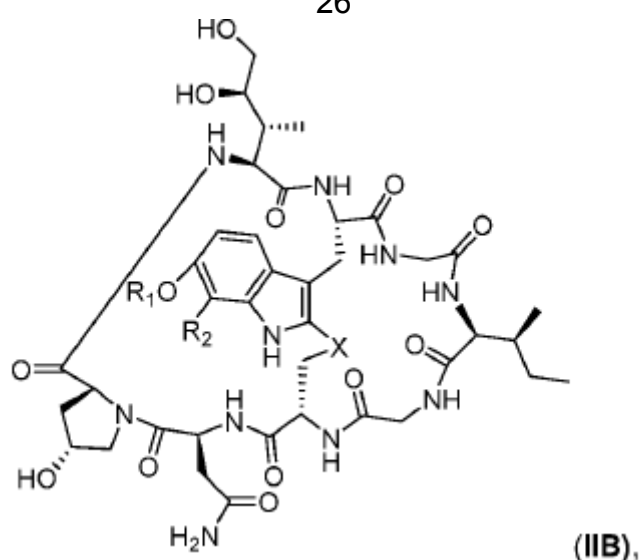


En algunas realizaciones, Am-L-Z-Ab es



En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula (II), la fórmula (IIA) o la fórmula (IIB)

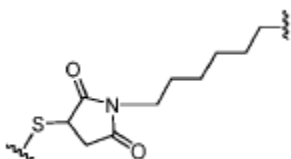




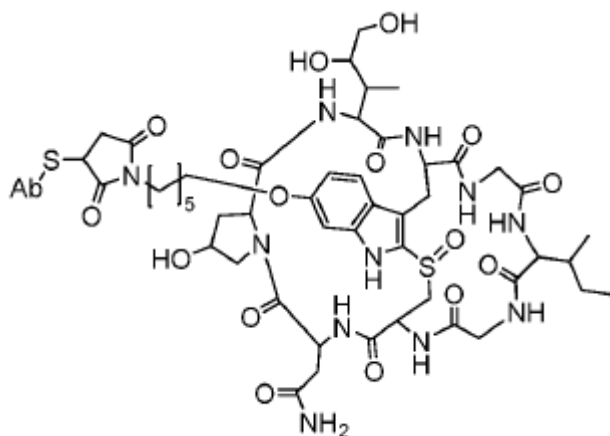
en donde X es S, SO o SO₂; R₁ es H o un enlazador unido covalentemente al anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo a través de un resto químico Z, formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en el enlazador y un sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo; y R₂ es H o un enlazador unido covalentemente al anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo a través de un resto químico Z, formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en el enlazador y un sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo; en donde cuando R₁ es H, R₂ es el enlazador y cuando R₂ es H, R₁ es el enlazador.

En algunas realizaciones, el enlazador comprende una unidad -(CH)_{2n}-, donde n es un número entero de 2 a 6.

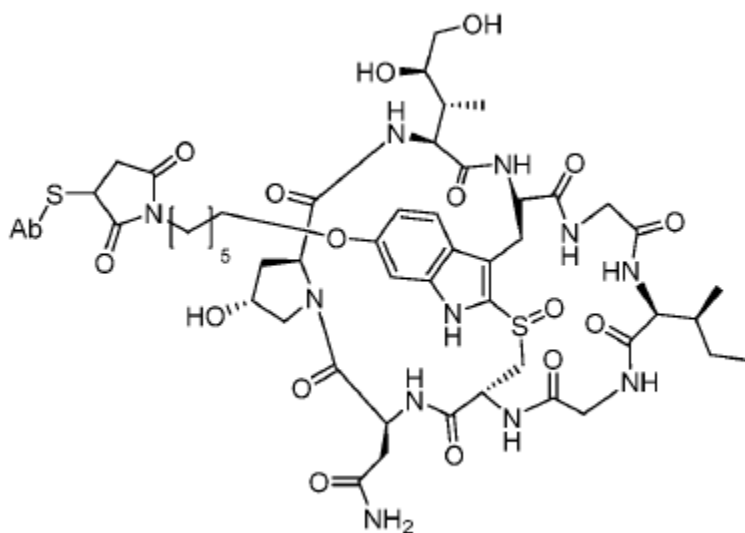
En algunas realizaciones, R₁ es el enlazador y R₂ es H, y el enlazador y el resto químico, juntos como L-Z, es



En algunas realizaciones, Am-L-Z-Ab es

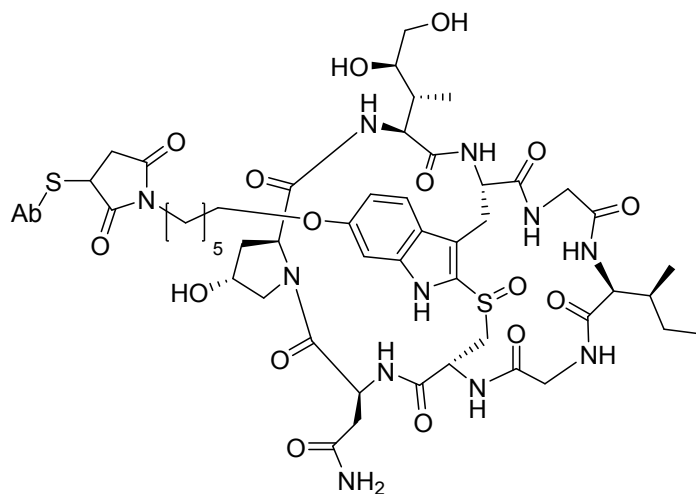


En algunas realizaciones, Am-L-Z-Ab es



5

En algunas realizaciones, Am-L-Z-Ab es:

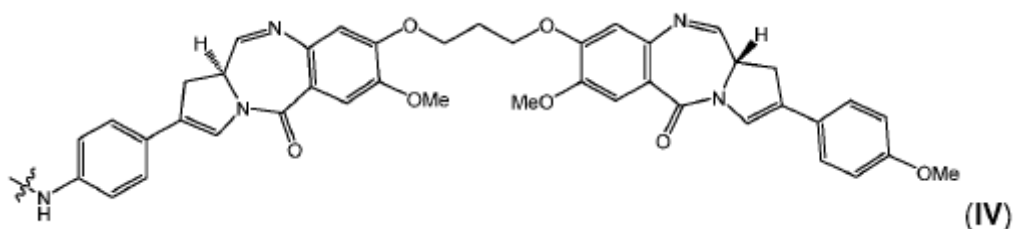


10

En algunas realizaciones de cualquiera de los aspectos anteriores, la citotoxina es un maitansinoide seleccionado entre el grupo que consiste en DM1 y DM4. En algunas realizaciones, la citotoxina es una auristatina seleccionada entre el grupo que consiste en monometil auristatina E y monometil auristatina F. En algunas realizaciones, la

citotoxina es una antraciclina seleccionada entre el grupo que consiste en daunorrubicina, doxorubicina, epirubicina e idarrubicina.

- 5 En algunas realizaciones, la citotoxina es un dímero de pirrolobenzodiacepina representado por la fórmula (IV):



- En algunas realizaciones, la citotoxina se conjuga con el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo, por medio de un enlazador de maleimidocaproílo.
- 10

En algunas realizaciones, la citotoxina es una auristatina seleccionada entre el grupo que consiste en monometil auristatina E y monometil auristatina F.

15

En algunas realizaciones, la citotoxina es una antraciclina seleccionada entre el grupo que consiste en daunorrubicina, doxorubicina, epirubicina e idarrubicina.

20

En algunas realizaciones, el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, es internalizado por una célula inmunitaria, tal como un linfocito T o un linfocito NK (por ejemplo, un linfocito T CD2+ o un linfocito NK CD2+) después de la administración al paciente. Por ejemplo, el anticuerpo,

25

o el fragmento de unión al antígeno del mismo, puede ser internalizado por linfocitos T mediante endocitosis mediada por receptor (por ejemplo, al unirse al CD2 de la superficie celular). En algunas realizaciones, una citotoxina unida

covalentemente al anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, puede liberarse intracelularmente por escisión química (por ejemplo, por escisión enzimática o inespecífica de un enlazador que se describe en el presente documento). Después, la citotoxina puede acceder a su diana intracelular (tal como la ARN polimerasa, el aparato del huso mitótico, el ADN nuclear, el ARN ribosómico o las topoisomerasas, entre otros) para promover la muerte de una célula inmunitaria endógena (por ejemplo, linfocitos T CD2+ o linfocitos NK CD2+) antes de la terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas.

En algunas realizaciones, el anticuerpo, el fragmento de unión a antígeno del mismo o el conjugado anticuerpo-fármaco son capaces de promover la necrosis de una célula inmunitaria, tal como un linfocito T o linfocito NK (por ejemplo, un linfocito T CD2+ o linfocito NK CD2+). En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo, puede promover la muerte de una célula inmunitaria endógena (por ejemplo, linfocitos T CD2+ o linfocitos NK CD2+) antes de la terapia de trasplante mediante el reclutamiento de una o más proteínas del complemento, linfocitos NK, macrófagos, neutrófilos y/o eosinófilos a la célula inmunitaria tras la administración al paciente.

25

En algunas realizaciones, se administra al paciente un trasplante autólogo que contiene células madre hematopoyéticas. Por ejemplo, pueden extraerse células madre hematopoyéticas autólogas de un paciente, tal como un paciente que necesite terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas, y las células pueden administrarse

30

posteriormente (por ejemplo, infundirse) en el paciente para repoblar uno o más tipos celulares del linaje hematopoyético.

Las células madre hematopoyéticas extraídas pueden reinfundirse nuevamente en el sujeto, por ejemplo, después del

5 mantenimiento ex vivo durante una o más horas, días o semanas. Por ejemplo, las células madre hematopoyéticas extraídas pueden reinfundirse en el paciente de 1 hora a aproximadamente 1 semana, de 1 hora a aproximadamente 72 horas, de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 48 horas o de
10 aproximadamente 1 hora a aproximadamente 24 horas después de la extracción del paciente. En algunas realizaciones, las células madre hematopoyéticas extraídas se congelan para un almacenamiento a largo plazo antes de la reinfusión al paciente. Por ejemplo, las células madre hematopoyéticas
15 extraídas pueden congelarse y crioconservarse durante aproximadamente 1 semana a aproximadamente 1 año o más, antes de la reinfusión al paciente.

En algunas realizaciones, se administra al paciente un
20 trasplante alógeno que contiene células madre hematopoyéticas. Por ejemplo, las células madre hematopoyéticas alógenas pueden extraerse de un donante, tal como un donante que coincide en HLA con respecto al paciente, por ejemplo, un familiar cercano del paciente. En algunas realizaciones, las células madre
25 hematopoyéticas alógenas no coinciden en HLA con respecto al paciente. Después de la extracción de las células madre hematopoyéticas alógenas de un donante, las células pueden administrarse posteriormente (por ejemplo, infundirse) al paciente para repoblar uno o más tipos celulares del linaje
30 hematopoyético. Las células madre hematopoyéticas extraídas pueden infundirse nuevamente en el sujeto, por ejemplo, después

del mantenimiento *ex vivo* durante una o más horas, días o semanas. Por ejemplo, las células madre hematopoyéticas extraídas pueden infundirse en el paciente de 1 hora a aproximadamente 1 semana, de 1 hora a aproximadamente 72 horas, de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 48 horas o de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 24 horas después de la extracción del donante. En algunas realizaciones, las células madre hematopoyéticas extraídas se congelan para un almacenamiento a largo plazo antes de la infusión al paciente. Por ejemplo, las células madre hematopoyéticas extraídas pueden congelarse y criopreservarse durante aproximadamente 1 semana a aproximadamente 1 año o más, antes de la infusión al paciente.

En algunas realizaciones, un trasplante que contiene células madre hematopoyéticas se administra al paciente después de que la concentración del anticuerpo anti-CD2, el fragmento de unión a antígeno del mismo o el conjugado anticuerpo-fármaco se ha eliminado sustancialmente de la sangre del paciente.

En algunas realizaciones, un trasplante que contiene células madre hematopoyéticas se administra al paciente de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 7 días (por ejemplo, de aproximadamente 6 horas a aproximadamente 3 días, de aproximadamente 12 horas a aproximadamente 36 horas o aproximadamente 24 horas) después de que la concentración del anticuerpo anti-CD2, el fragmento de unión a antígeno o el conjugado anticuerpo-fármaco se ha eliminado sustancialmente de la sangre del paciente.

En algunas realizaciones, las células madre hematopoyéticas o la progenie de las mismas mantienen el

potencial funcional de células madre hematopoyéticas después de dos o más días (por ejemplo, de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 días, de aproximadamente 2 a aproximadamente 7 días, de aproximadamente 2 a aproximadamente 20 días, de aproximadamente 2 a aproximadamente 30 días, tal como aproximadamente 2 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 6 días, aproximadamente 7 días, aproximadamente 8 días, aproximadamente 9 días, aproximadamente 10 días, aproximadamente 11 días, aproximadamente 12 días, aproximadamente 13 días, aproximadamente 14 días, aproximadamente 15 días, aproximadamente 16 días, aproximadamente 17 días, aproximadamente 18 días, aproximadamente 19 días, aproximadamente 20 días, aproximadamente 21 días, aproximadamente 22 días, aproximadamente 23 días, aproximadamente 24 días, aproximadamente 25 días, aproximadamente 26 días, aproximadamente 27 días, aproximadamente 28 días, aproximadamente 29 días, aproximadamente 30 días o más) después del trasplante de las células madre hematopoyéticas al paciente.

En algunas realizaciones, las células madre hematopoyéticas o la progenie de las mismas son capaces de ubicarse en el tejido hematopoyético, tal como la médula ósea, y/o restablecer la hematopoyesis después del trasplante de las células madre hematopoyéticas al paciente.

En algunas realizaciones, después del trasplante al paciente, las células madre hematopoyéticas originan la recuperación de una población de células seleccionada entre el

grupo que consiste en megacariocitos, trombocitos, plaquetas, eritrocitos, mastocitos, mioblastos, basófilos, neutrófilos, eosinófilos, microglía, granulocitos, monocitos, osteoclastos, células presentadoras de antígenos, macrófagos, células
5 dendríticas, linfocitos citolíticos naturales, linfocitos T y linfocitos B.

En algunas realizaciones, el paciente padece cáncer. El cáncer puede ser un cáncer hemático o un tipo de leucemia, tal
10 como leucemia mieloide aguda, leucemia linfoide aguda, leucemia mieloide crónica o leucemia linfoide crónica.

En algunas realizaciones, las células CD2+ comprenden células cancerosas.

15

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD2, fragmento de unión a antígeno del mismo o conjugado anticuerpo-fármaco agota las células cancerosas en un paciente. Por ejemplo, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del
20 mismo puede agotar aproximadamente 10 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 90 % o sustancialmente todas las células cancerosas en un paciente.

25

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD2, fragmento de unión a antígeno del mismo o el conjugado anticuerpo-fármaco agota las células sanguíneas cancerosas (por ejemplo, células leucémicas) en un paciente. En algunas
30 realizaciones, las células sanguíneas cancerosas son células leucémicas mieloides agudas, células leucémicas linfoides

agudas, células leucémicas mieloides crónicas o células leucémicas linfoides crónicas. En algunas realizaciones, las células sanguíneas cancerosas son megacariocitos, trombocitos, plaquetas, eritrocitos, mastocitos, mioblastos, basófilos, neutrófilos, eosinófilos, microglía, granulocitos, monocitos, osteoclastos, células presentadoras de antígeno, macrófagos, células dendríticas, linfocitos citolíticos naturales, linfocitos T o linfocitos B.

10 En algunas realizaciones, la población de células CD2+ comprende células inmunitarias, tales como linfocitos T CD2+ y/o linfocitos NK CD2+.

En algunas realizaciones de cualquiera de los aspectos anteriores, el método se usa para tratar uno o más trastornos, tal como agotando una población de células inmunitarias en un paciente, por ejemplo, antes de la terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas para prevenir o reducir la probabilidad de rechazo del trasplante de células madre hematopoyéticas que de otro modo podría ser provocado por una población de células inmunitarias que reacciona de forma cruzada con el injerto de células madre hematopoyéticas, (por ejemplo, por reacción cruzada con antígenos de MHC no propios expresados por el injerto de células madre hematopoyéticas).

25 Después del trasplante, las células madre hematopoyéticas pueden establecer una hematopoyesis productiva, para reponer un tipo celular deficiente en el paciente o un tipo celular que se está destruyendo activamente o se ha destruido, por ejemplo, mediante métodos quimioterápicos. Por ejemplo, el

30 paciente puede ser uno que padezca un trastorno de células madre. En algunas realizaciones, el paciente padece un

trastorno de hemoglobinopatía, tal como anemia falciforme, talasemia, anemia de Fanconi, anemia aplásica y síndrome de Wiskott-Aldrich. El paciente puede estar padeciendo un trastorno de inmunodeficiencia, tal como un trastorno de

5 inmunodeficiencia congénita o un trastorno de inmunodeficiencia adquirida (por ejemplo, virus de inmunodeficiencia humana o síndrome de inmunodeficiencia adquirida). En algunas realizaciones, el paciente padece un trastorno metabólico, tal como enfermedades del almacenamiento

10 de glucógeno, mucopolisacaridosis, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Hurler, esfingolipidosis y leucodistrofia metacromática. En algunas realizaciones, el paciente padece un trastorno seleccionado entre el grupo que consiste en deficiencia de adenosina desaminasa e inmunodeficiencia

15 combinada grave, síndrome de hiper inmunoglobulina M, enfermedad de Chediak-Higashi, linfocitosis hereditaria, osteopetrosis, osteogénesis imperfecta, enfermedades de almacenamiento, talasemia mayor, esclerosis sistémica, lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide juvenil. En algunas

20 realizaciones, el paciente padece una enfermedad autoinmunitaria, tal como esclerodermia, esclerosis múltiple, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn y diabetes de tipo 1. En algunas realizaciones, el paciente padece cáncer o una enfermedad mieloproliferativa, tal como un cáncer hemático. En

25 algunas realizaciones, el paciente padece leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfocítica crónica, mieloma múltiple, linfoma difuso de linfocitos B grandes o linfoma no Hodgkin. En algunas realizaciones, el paciente padece una enfermedad

30 mielodisplásica, tal como el síndrome mielodisplásico.

En algunas realizaciones de cualquiera de los aspectos anteriores, el método se usa para tratar directamente un cáncer, tal como un cáncer caracterizado por células CD2+ (por ejemplo, una leucemia caracterizada por células CD2+), mediante la administración de un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno del mismo o conjugado del mismo que agota una población de células cancerosas CD2+ en el paciente y/o mediante la administración de un anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo, antes de la terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas para prevenir o reducir la probabilidad de rechazo del trasplante de células madre hematopoyéticas que de otro modo podría ser provocado por una población de células inmunitarias que reacciona de forma cruzada con el injerto de células madre hematopoyéticas (por ejemplo, que reacciona de forma cruzada con antígenos de MHC no propios expresados por el injerto de células madre hematopoyéticas). En este último caso, el trasplante puede a su vez reconstituir, por ejemplo, una población de células agotadas durante el proceso de erradicación de células cancerosas. El cáncer puede ser un cáncer hemático, tal como leucemia mieloide aguda, leucemia linfoide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoide crónica, mieloma múltiple, linfoma difuso de linfocitos B grandes o linfoma no Hodgkin.

En algunas realizaciones de cualquiera de los aspectos anteriores, el método se usa para tratar una enfermedad autoinmunitaria, tal como mediante la administración de un anticuerpo anti-CD2, un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado del mismo para agotar una población de células autoinmunitarias CD2+ (por ejemplo, una población de linfocitos T, linfocitos T y/o linfocitos NK CD2+ autorreactivos) y/o

mediante la administración de un anticuerpo anti-CD2, un fragmento de unión a antígeno del mismo o conjugado del mismo antes de la terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas para prevenir o reducir la probabilidad de rechazo del trasplante de células madre hematopoyéticas que de otro modo podría ser provocado por una población de células inmunitarias que reacciona de forma cruzada con el injerto de células madre hematopoyéticas (por ejemplo, que reacciona de forma cruzada con antígenos de MHC no propios expresados por el injerto de células madre hematopoyéticas). En este último caso, el trasplante puede a su vez reconstituir, por ejemplo, una población de células agotadas durante el proceso de erradicación de células autoinmunitarias. La enfermedad autoinmunitaria puede ser, por ejemplo, esclerodermia, esclerosis múltiple (EM), lupus sistémico humano (LES), artritis reumatoide (AR), enfermedad inflamatoria intestinal (EII), tratamiento de la psoriasis, diabetes mellitus de tipo 1 (diabetes de tipo 1), encefalomiелitis diseminada aguda (EMDA), enfermedad de Addison, alopecia universal, espondilitis anquilosante, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos (SAF), anemia aplásica, anemia hemolítica autoinmunitaria, hepatitis autoinmunitaria, enfermedad autoinmunitaria del oído interno (EAOI), síndrome linfoproliferativo autoinmunitario (SLPA), ooforitis autoinmunitaria, enfermedad de Balo, enfermedad de Behcet, penfigoide ampollosa, cardiomiopatía, enfermedad de Chagas, síndrome de disfunción inmunitaria por fatiga crónica (SDIFC), polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, enfermedad de Crohn, penfigoide cicatricial, dermatitis herpética celiaca, enfermedad de crioaglutinina, síndrome CREST, enfermedad de Degos, lupus discoide, disautonomía,

endometriosis, crioglobulinemia mixta esencial, fibromialgia-fibromiositis, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barré (SGB), tiroiditis de Hashimoto, hidradenitis supurativa, púrpura trombocitopénica idiopática y/o aguda, fibrosis pulmonar idiopática, neuropatía por IgA, cistitis intersticial, artritis juvenil, enfermedad de Kawasaki, liquen plano, enfermedad de Lyme, enfermedad de Meniere, enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC), miastenia grave, neuromiotonía, síndrome de opsoclono mioclono (SOM), neuritis óptica, tiroiditis de Ord, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, policondritis, polimiositis y dermatomiositis, cirrosis biliar primaria, poliarteritis nodosa, síndromes poliglandulares, polimialgia reumática, agammaglobulinemia primaria, fenómeno de Raynaud, síndrome de Reiter, fiebre reumática, sarcoidosis, esclerodermia, síndrome de Sjögren, síndrome de persona rígida, arteritis de Takayasu, arteritis temporal (también conocida como "arteritis de células gigantes"), colitis ulcerosa, uveítis, vasculitis, vitíligo, vulvodinia ("vestibulitis vulvar") y granulomatosis de Wegener.

Por tanto, en algunas realizaciones de cualquiera de los aspectos anteriores, la invención presenta un método para tratar un trastorno de hemoglobinopatía, tal como anemia falciforme, talasemia, anemia de Fanconi, anemia aplásica y síndrome de Wiskott-Aldrich. En algunas realizaciones, la invención presenta un método para tratar un trastorno de inmunodeficiencia, tal como un trastorno de inmunodeficiencia congénita o un trastorno de inmunodeficiencia adquirida (por ejemplo, virus de inmunodeficiencia humana o síndrome de inmunodeficiencia adquirida). En algunas realizaciones, la

invención presenta un método para tratar un trastorno metabólico, tal como enfermedades del almacenamiento de glucógeno, mucopolisacaridosis, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Hurler, esfingolipidosis y leucodistrofia metacromática. En algunas realizaciones, la invención presenta un método para tratar un trastorno seleccionado entre el grupo que consiste en deficiencia de adenosina desaminasa e inmunodeficiencia combinada grave, síndrome de hiper inmunoglobulina M, enfermedad de Chediak-Higashi, linfocitosis hereditaria, osteopetrosis, osteogénesis imperfecta, enfermedades del almacenamiento, talasemia mayor, esclerosis sistémica, lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide juvenil. En algunas realizaciones, la invención presenta un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria, tal como esclerodermia, esclerosis múltiple, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, diabetes de tipo 1. En algunas realizaciones, la invención presenta un método para tratar un cáncer o una enfermedad mieloproliferativa, tal como un cáncer hemático. En algunas realizaciones, la invención presenta un método para tratar leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfocítica crónica, mieloma múltiple, linfoma difuso de linfocitos B grandes o linfoma no Hodgkin. En algunas realizaciones, el paciente padece una enfermedad mielodisplásica, tal como el síndrome mielodisplásico. En estas realizaciones, el método puede incluir administrar al paciente un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado del mismo que se une a CD2, tal como el anticuerpo, el fragmento de unión a antígeno del mismo o el conjugado del mismo de cualquiera de los aspectos o realizaciones de la invención. El método puede incluir adicionalmente administrar al paciente un trasplante

de células madre hematopoyéticas, por ejemplo, de acuerdo con el método de cualquiera de los aspectos o realizaciones de la invención.

5 De manera similar, en algunas realizaciones de cualquiera de los aspectos anteriores, la invención proporciona un método para tratar el cáncer directamente, tal como un cáncer caracterizado por células CD2+ (por ejemplo, una leucemia caracterizada por células CD2+). En estas realizaciones, el
10 método puede incluir administrar al paciente un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado del mismo que se une a CD2, tales como los descritos en el presente documento. El cáncer puede ser un cáncer hemático, tal como leucemia mieloide aguda, leucemia linfoide aguda, leucemia
15 mieloide crónica, leucemia linfoide crónica, mieloma múltiple, linfoma difuso de linfocitos B grandes o linfoma no Hodgkin.

Además, en algunas realizaciones de cualquiera de los aspectos anteriores, la invención proporciona un método para
20 tratar una enfermedad autoinmunitaria, tal como EM, LES, AR, EII, psoriasis, diabetes de tipo 1, EMDA, enfermedad de Addison, alopecia universal, espondilitis anquilosante, SAF, anemia aplásica, anemia hemolítica autoinmunitaria, hepatitis autoinmunitaria, EAOI, SLPA, ooforitis autoinmunitaria,
25 enfermedad de Balo, enfermedad de Behcet, penfigoide ampolloso, cardiomiopatía, enfermedad de Chagas, SDIFC, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, enfermedad de Crohn, penfigoide cicatricial, dermatitis herpetiforme celíaca, enfermedad de crioaglutinina, síndrome de CREST, enfermedad de
30 Degos, lupus discoide, disautonomía, endometriosis, crioglobulinemia mixta esencial, fibromialgia-fibromiositis,

síndrome de Goodpasture, enfermedad de Grave, SGB, tiroiditis de Hashimoto, hidradenitis supurativa, púrpura trombocitopénica idiopática y/o aguda, fibrosis pulmonar idiopática, neuropatía por IgA, cistitis intersticial, 5 artritis juvenil, enfermedad de Kawasaki, liquen plano, enfermedad de Lyme, enfermedad de Meniere, EMTC, miastenia grave, neuromiotonía, SOM, neuritis óptica, tiroiditis de Ord, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, policondritis, polimiositis y dermatomiositis, cirrosis biliar primaria, poliarteritis 10 nodosa, síndromes poliglandulares, polimialgia reumática, agammaglobulinemia primaria, fenómeno de Raynaud, síndrome de Reiter, fiebre reumática, sarcoidosis, esclerodermia, síndrome de Sjögren, síndrome de persona rígida, arteritis de Takayasu, arteritis temporal (también conocida como "arteritis de células 15 gigantes"), colitis ulcerosa, uveítis, vasculitis, vitíligo, vulvodinia ("vestibulitis vulvar") y granulomatosis de Wegener. En estas realizaciones, el método puede incluir administrar al paciente un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno del mismo o un conjugado del mismo que se une a CD2, 20 tales como los descritos en el presente documento.

En otro aspecto, las composiciones y métodos desvelados en la presente memoria presentan un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2, en donde el 25 anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se conjuga con una toxina. En algunas realizaciones, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es producido por la línea celular de hibridoma ATCC HB 11423. En algunas realizaciones, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno 30 del mismo, inhibe competitivamente la unión de CD2 a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo producido

por la estirpe celular de hibridoma ATCC HB 11423. En algunas realizaciones, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende las siguientes CDR:

- 5 una CDR-H1 que tiene la secuencia de aminoácidos EYYMY (SEQ ID NO: 1);
- una CDR-H2 que tiene la secuencia de aminoácidos RIDPEDGSIDYVEKFKK (SEQ ID NO: 2);
- una CDR-H3 que tiene la secuencia de aminoácidos GKFNYRFAY
- 10 (SEQ ID NO: 3);
- una CDR-L1 que tiene la secuencia de aminoácidos RSSQSLHSSGNTYLN (SEQ ID NO: 4);
- una CDR-L2 que tiene la secuencia de aminoácidos LVSKLES (SEQ ID NO: 5); y
- 15 una CDR-L3 que tiene la secuencia de aminoácidos MQFTHYPYT (SEQ ID NO: 6).

En algunas realizaciones, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, inhibe competitivamente la unión

20 de CD2 a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende las siguientes CDR:

- una CDR-H1 que tiene la secuencia de aminoácidos EYYMY (SEQ ID NO: 1);
- 25 una CDR-H2 que tiene la secuencia de aminoácidos RIDPEDGSIDYVEKFKK (SEQ ID NO: 2);
- una CDR-H3 que tiene la secuencia de aminoácidos GKFNYRFAY (SEQ ID NO: 3);
- una CDR-L1 que tiene la secuencia de aminoácidos
- 30 RSSQSLHSSGNTYLN (SEQ ID NO: 4);
- una CDR-L2 que tiene la secuencia de aminoácidos LVSKLES (SEQ

ID NO: 5); y

una CDR-L3 que tiene la secuencia de aminoácidos MQFTHYPYT
(SEQ ID NO: 6).

5 En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD2, o
fragmento de unión a antígeno del mismo, conjugado con una
toxina se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo
monoclonal, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo humanizado
o fragmento de unión al antígeno del mismo, un anticuerpo
10 biespecífico o fragmento de unión a antígeno del mismo, un
dominio de inmunoglobulina de doble variable, un scFv, un
diacuerpo, un triacuerpo, un nanocuerpo, un armazón proteico
similar a anticuerpo, un fragmento Fv, un fragmento Fab, una
molécula $F(ab')_2$ y un tándem di-scFv.

15

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD2 tiene un
isotipo seleccionado entre el grupo que consiste en IgG, IgA,
IgM, IgD e IgE.

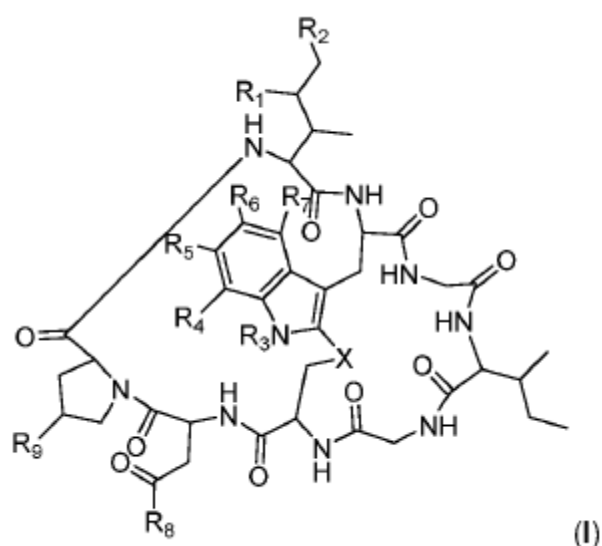
20

En algunas realizaciones, el anticuerpo o el fragmento de
unión a antígeno del mismo, conjugado con la citotoxina se
representa por la fórmula Ab-Cy, en donde Ab es el anticuerpo
anti-CD2, o fragmento de unión a antígeno del mismo, y Cy es
la citotoxina. En algunas realizaciones, la citotoxina se
25 selecciona entre el grupo que consiste en una amatoxina,
exotoxina A de *Pseudomonas*, deBouganina, toxina diftérica,
saporina, maitansina, un maitansinoide, una auristatina, una
antraciclina, una caliqueamicina, irinotecán, SN-38, una
duocarmicina, una pirrolobenzodiacepina, un dímero de
30 pirrolobenzodiacepina, una indolinobenzodiacepina y un dímero
de indolinobenzodiacepina, o una variante de los mismos.

En algunas realizaciones, la citotoxina es una amatoxina o derivado de la misma, tal como α -amanitina, β -amanitina, γ -amanitina, ε -amanitina, amanina, amaninamida, amanulina, ácido amanulínico y proamanulina. En algunas realizaciones, la

5 citotoxina es una amatoxina y el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo, conjugado con la citotoxina se representa por la fórmula $Ab-Z-L-Am$, en donde Ab es el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo, Z es un resto químico, L es un enlazador y Am es la amatoxina. En

10 algunas realizaciones, $Am-L-Z$ se representa por la fórmula (I)



en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

R_A y R_B , cuando están presentes, junto con los átomos de

15 oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente sustituido;

R_3 es H, R_C o R_D ;

R_4 es H, OH, OR_C , ORD , R_C o R_D ;

20 R_5 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_6 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_7 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C o NR_CR_D ;

R_9 es H, OH, OR_C u OR_D ;

X es -S-, -S(O)- o -SO₂-;

R_C es -L-Z;

R_D es alquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquilo C₁-C₆), heteroalquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquilo C₁-C₆), alquenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquenilo C₂-C₆), heteroalquenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenilo C₂-C₆), alquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinilo C₂-C₆), heteroalquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquinilo C₂-C₆), cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido;

L es un enlazador, tal como alquileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquileno C₁-C₆), heteroalquileno opcionalmente sustituido (heteroalquileno C₁-C₆), alquenileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquenileno C₂-C₆), heteroalquenileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenileno C₂-C₆), alquinileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinileno C₂-C₆), heteroalquinileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquinileno C₂-C₆), cicloalquileno opcionalmente sustituido, heterocicloalquileno opcionalmente sustituido, arileno opcionalmente sustituido, heteroarileno opcionalmente sustituido, un dipéptido, -C(=O)-, un péptido o una combinación de los mismos; y

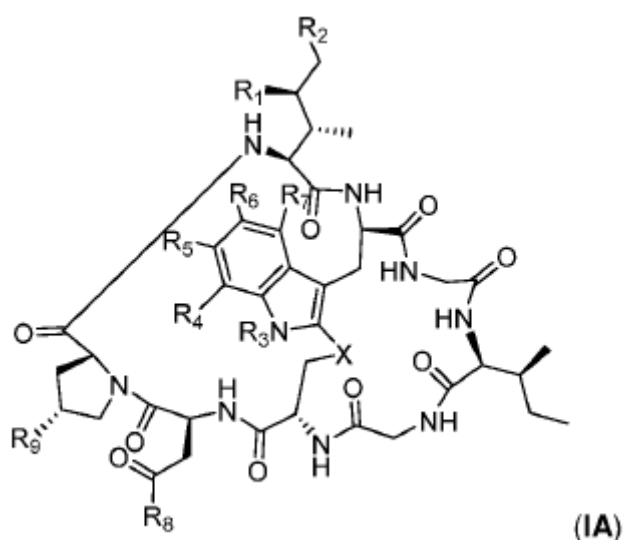
Z es un resto químico formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en L y un sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2, tal como en la superficie de un linfocito T CD2+ o linfocito NK

CD2+.

En algunas realizaciones, Am contiene exactamente un sustituyente R_C .

5

En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula (IA)



en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

10

R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

R_A y R_B , cuando están presentes, junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente sustituido;

15

R_3 es H, R_C o R_D ;

R_4 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_5 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_6 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_7 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

20

R_8 es OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C o NR_CR_D ;

R_9 es H, OH, OR_C u OR_D ;

X es $-S-$, $-S(O)-$ o $-SO_2-$;

R_C es $-L-Z$;

R_D es alquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo,

alquilo C₁-C₆), heteroalquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquilo C₁-C₆), alquenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquenilo C₂-C₆), heteroalquenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenilo C₂-C₆),
 5 alquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinilo C₂-C₆), heteroalquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquinilo C₂-C₆), cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente
 10 sustituido;

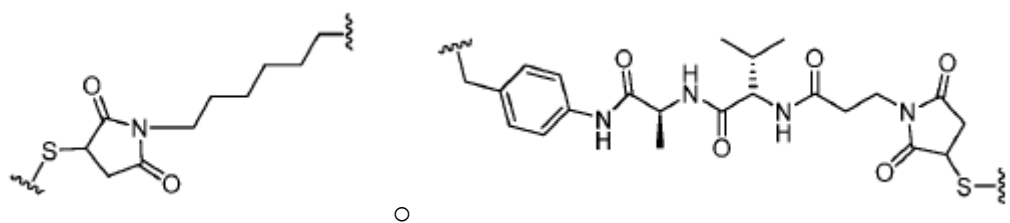
L es un enlazador, tal como alquileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquileno C₁-C₆), heteroalquileno opcionalmente sustituido (heteroalquileno C₁-C₆), alquenileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquenileno C₂-C₆),
 15 heteroalquenileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenileno C₂-C₆), alquinileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinileno C₂-C₆), heteroalquinileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquinileno C₂-C₆), cicloalquileno opcionalmente sustituido,
 20 heterocicloalquileno opcionalmente sustituido, arileno opcionalmente sustituido, heteroarileno opcionalmente sustituido, un dipéptido, -C(=O)-, un péptido o una combinación de los mismos;

Z es un resto químico formado a partir de una reacción de
 25 acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en L y un sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2, tal como en la superficie de un linfocito T CD2+ o linfocito NK CD2+; y

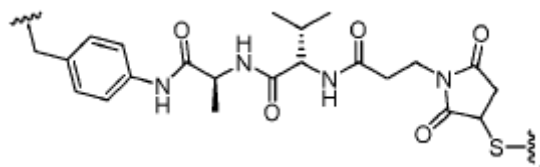
30 en donde Am contiene exactamente un sustituyente R_C.

En algunas realizaciones, el enlazador L y el resto

químico Z, tomados juntos como L-Z, es

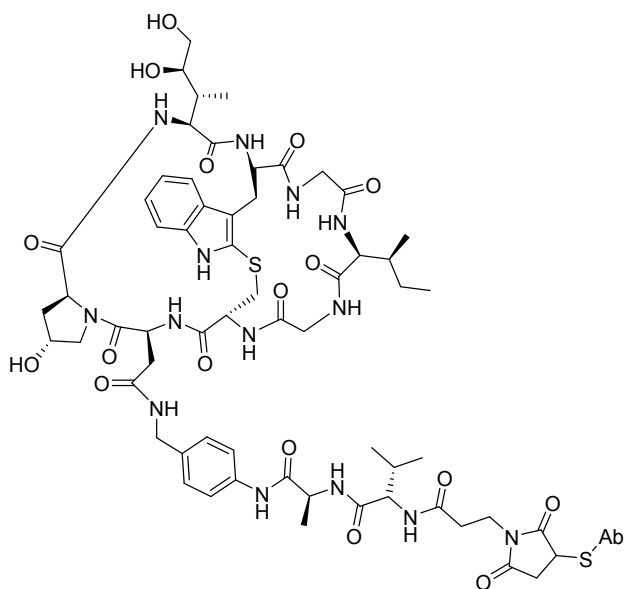


En algunas realizaciones, L-Z es

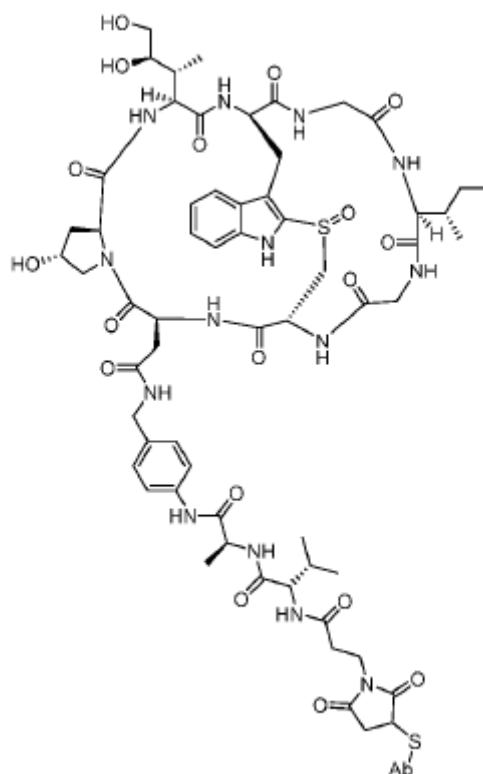


5

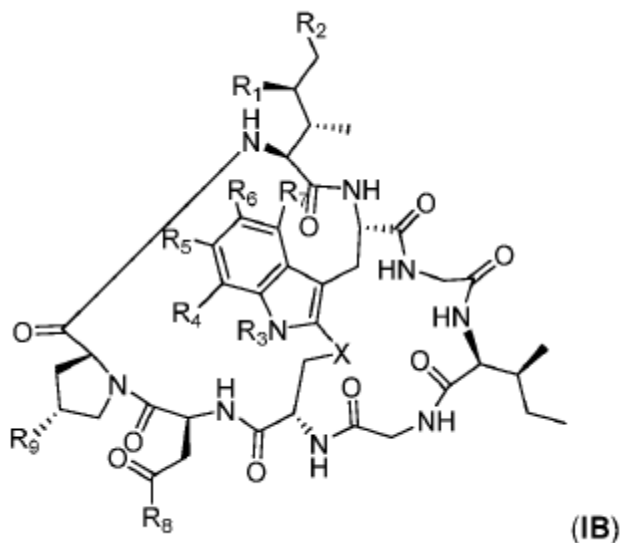
En algunas realizaciones, Am-L-Z-Ab es



En algunas realizaciones, Am-L-Z-Ab es



En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula (IB)



en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

5 R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

R_A y R_B , cuando están presentes, junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente sustituido;

10 R_3 es H, R_C o R_D ;

R_4 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_5 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_6 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_7 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

15 R_8 es OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C o NR_CR_D ;

R_9 es H, OH, OR_C u OR_D ;

X es -S-, -S(O)- o -SO₂-;

R_C es -L-Z;

R_D es alquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquilo C₁-C₆), heteroalquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquilo C₁-C₆), alquenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquenilo C₂-C₆), heteroalquenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenilo C₂-C₆), alquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinilo C₂-

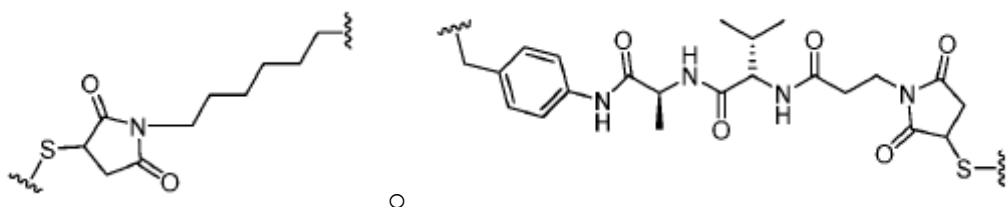
C₆), heteroalquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquinilo C₂-C₆), cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido;

L es un enlazador, tal como alquileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquileno C₁-C₆), heteroalquileno opcionalmente sustituido (heteroalquileno C₁-C₆), alquenileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquenileno C₂-C₆), heteroalquenileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenileno C₂-C₆), alquinileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinileno C₂-C₆), heteroalquinileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquinileno C₂-C₆), cicloalquileno opcionalmente sustituido, heterocicloalquileno opcionalmente sustituido, arileno opcionalmente sustituido, heteroarileno opcionalmente sustituido, un dipéptido, -C(=O)-, un péptido o una combinación de los mismos;

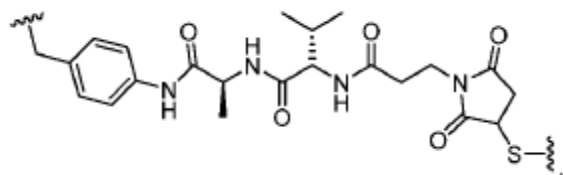
Z es un resto químico formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en L y un sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2, tal como en la superficie de un linfocito T CD2+ o linfocito NK CD2+; y

en donde Am contiene exactamente un sustituyente R_C.

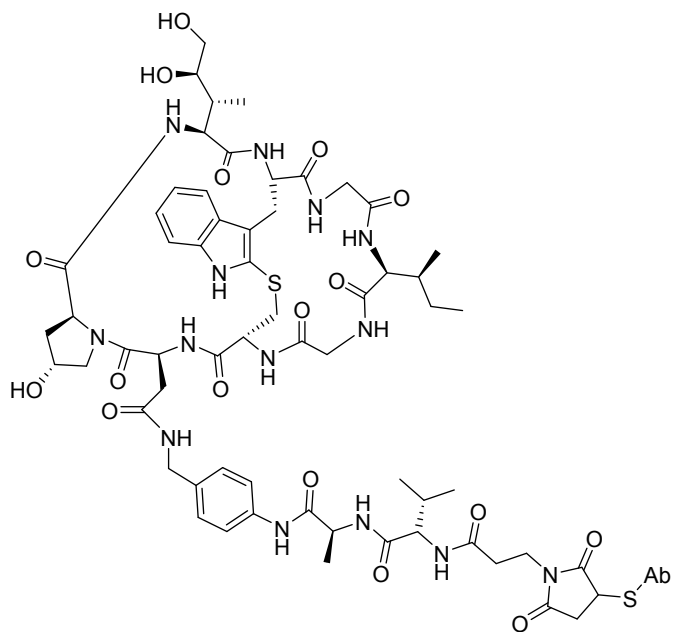
En algunas realizaciones, el enlazador L y el resto químico Z, tomados juntos como L-Z, es



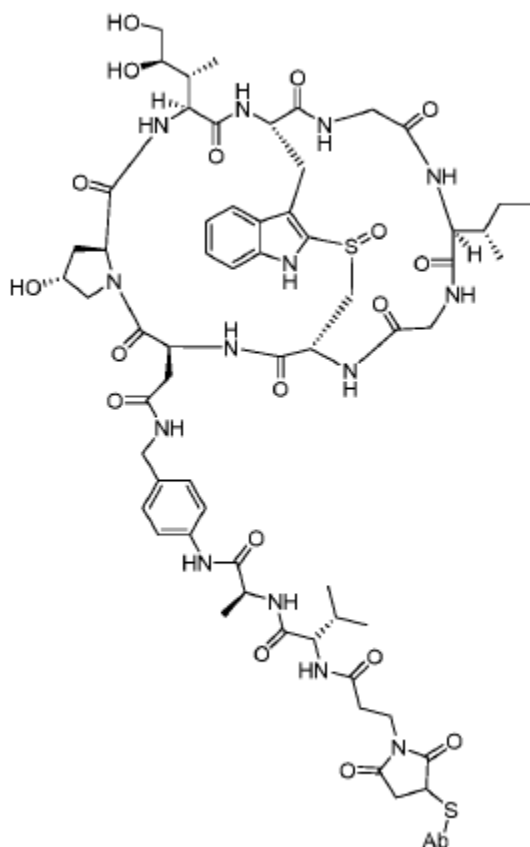
En algunas realizaciones, L-Z es



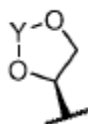
En algunas realizaciones, Am-L-Z-Ab es



En algunas realizaciones, Am-L-Z-Ab es



En algunas realizaciones, R_A y R_B , junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros de fórmula:

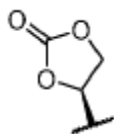


en donde Y es $-C(=O)-$, $-C(=S)-$, $-C(=NR_E)-$ o $-C(R_ER_{E'})-$; y R_E y $R_{E'}$ son cada uno independientemente alquileo C_1-C_6- R_C opcionalmente sustituido, heteroalquileo $C_1-C_6-R_C$ 5 opcionalmente sustituido, alquenilo $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, heteroalquenilo $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, alquinilo $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, heteroalquinilo $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, cicloalquileo- R_C opcionalmente sustituido, 10 heterocicloalquileo- R_C opcionalmente sustituido, arileo- R_C opcionalmente sustituido o heteroarileo- R_C opcionalmente sustituido.

En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la 15 fórmula (**IA**) o la fórmula (**IB**), en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

R_A y R_B , junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar:



20

R_3 es H o R_C ;

R_4 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_5 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_6 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

25

R_7 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C o NHR_C ;

R_9 es H u OH; y

en donde X, R_C y R_D son cada uno como se han definido

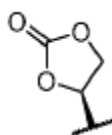
anteriormente.

En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula **(IA)** o la fórmula **(IB)**,

5 en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

R_A y R_B , junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar:



10 R_3 es H o R_C ;

R_4 y R_5 son cada uno independientemente H, OH, OR_C , R_C u OR_D ;

R_6 y R_7 son cada uno H;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C o NHR_C ;

15 R_9 es H u OH; y

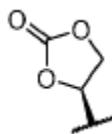
en donde X y R_C son como se han definido anteriormente.

En algunas realizaciones, Am se representa por la fórmula **(IA)** o la fórmula **(IB)**,

en donde R_1 es H, OH u OR_A ;

20 R_2 es H, OH u OR_B ;

R_A y R_B , junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar:



R_3 , R_4 , R_6 y R_7 son cada uno H;

25 R_5 es OR_C ;

R_8 es OH o NH_2 ;

R_9 es H u OH; y

en donde X y R_C son como se han definido anteriormente.

En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula **(IA)** o la fórmula **(IB)**,

en donde R_1 y R_2 son cada uno independientemente H u OH;

R_3 es R_C ;

5 R_4 , R_6 y R_7 son cada uno H;

R_5 es H, OH u O-alquilo C_1 - C_6 ;

R_8 es OH o NH_2 ;

R_9 es H u OH; y

en donde X y R_C son como se han definido anteriormente.

10 En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula **(IA)** o la fórmula **(IB)**,

en donde R_1 y R_2 son cada uno independientemente H u OH;

R_3 , R_6 y R_7 son cada uno H;

R_4 y R_5 son cada uno independientemente H, OH, OR_C o R_C ;

15 R_8 es OH o NH_2 ;

R_9 es H u OH; y

en donde X y R_C son como se han definido anteriormente.

En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula **(IA)** o la fórmula **(IB)**,

20 en donde R_1 y R_2 son cada uno independientemente H u OH;

R_3 , R_6 y R_7 son cada uno H;

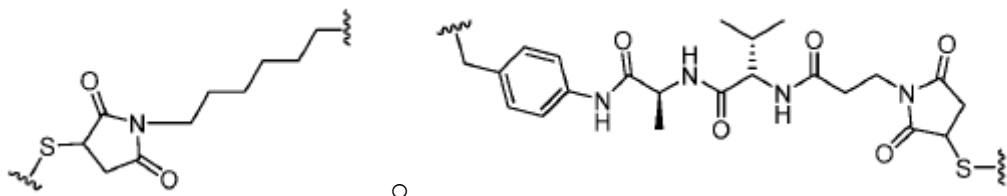
R_4 y R_5 son cada uno independientemente H u OH;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C o NHR_C ;

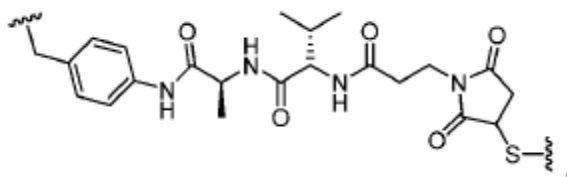
R_9 es H u OH; y

25 en donde X y R_C son como se han definido anteriormente.

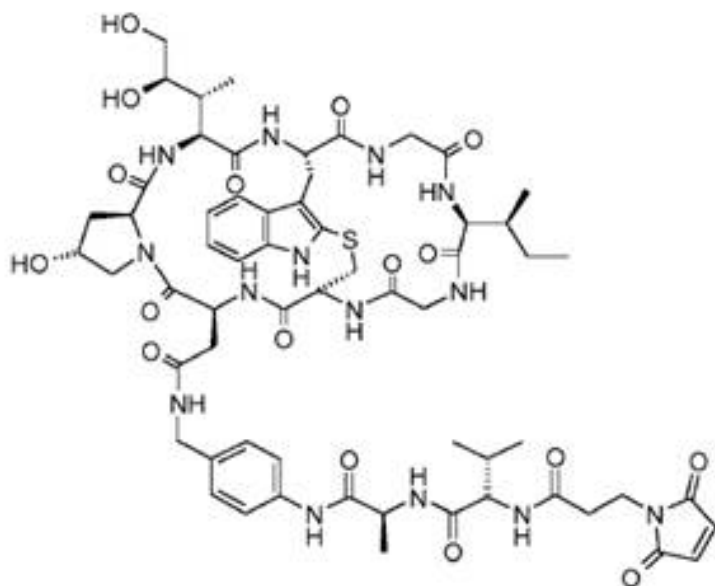
En algunas realizaciones, el enlazador L y el resto químico Z, tomados juntos como L-Z, es



En algunas realizaciones, L-Z es

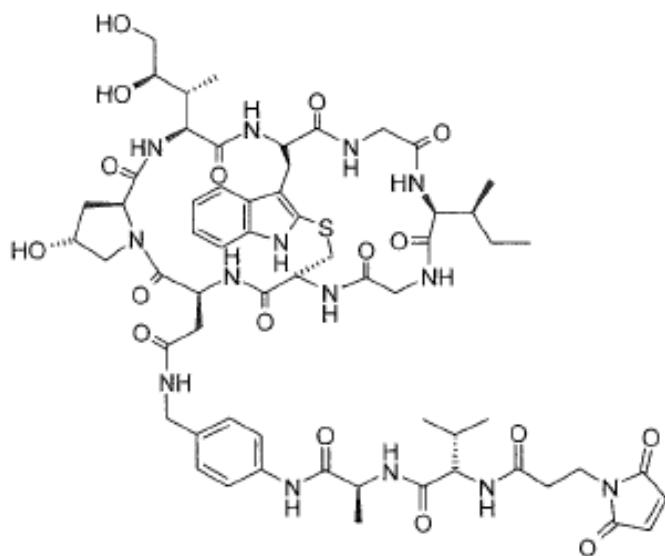


En algunas realizaciones, el precursor de Am-L-Z es



5 en donde la maleimida reacciona con un grupo tiol encontrado en una cisteína en el anticuerpo.

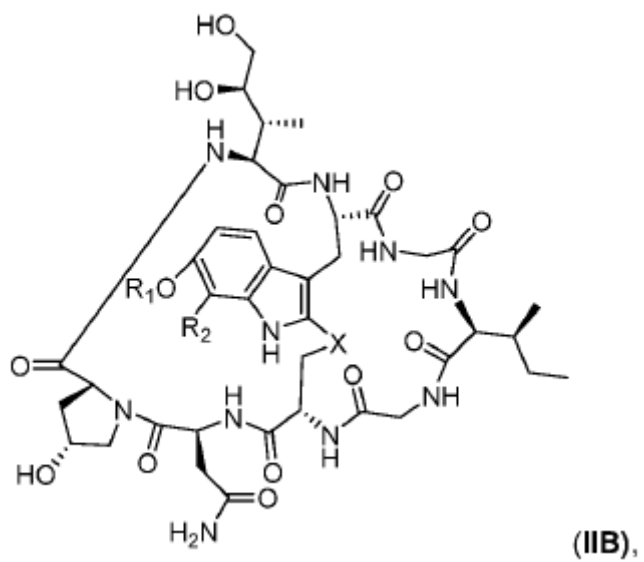
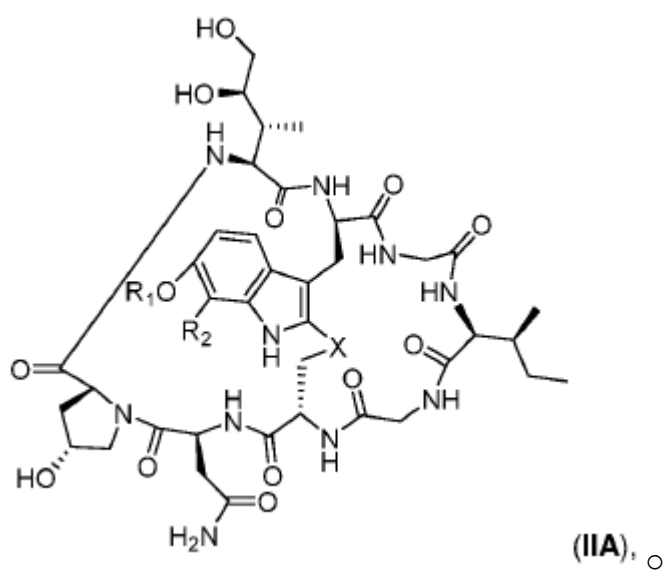
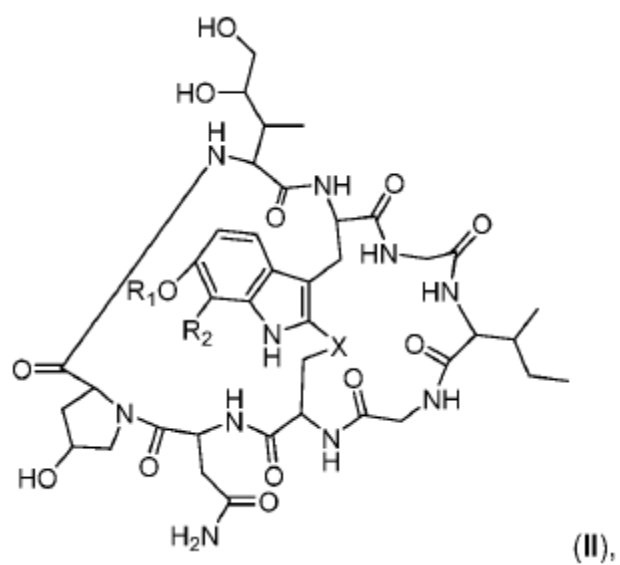
En algunas realizaciones, el precursor de Am-L-Z es



10 en donde la maleimida reacciona con un grupo tiol encontrado en una cisteína en el anticuerpo.

En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la

fórmula (II), la fórmula (IIA) o la fórmula (IIB)



5 en donde X es S, SO o SO₂; R₁ es H o un enlazador unido covalentemente al anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo a través de un resto químico Z, formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en el enlazador y un sustituyente reactivo presente

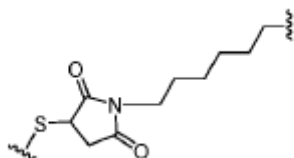
10 dentro de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del

mismo; y R_2 es H o un enlazador unido covalentemente al anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo a través de un resto químico Z, formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en el

5 enlazador y un sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo; en donde cuando R_1 es H, R_2 es el enlazador y cuando R_2 es H, R_1 es el enlazador.

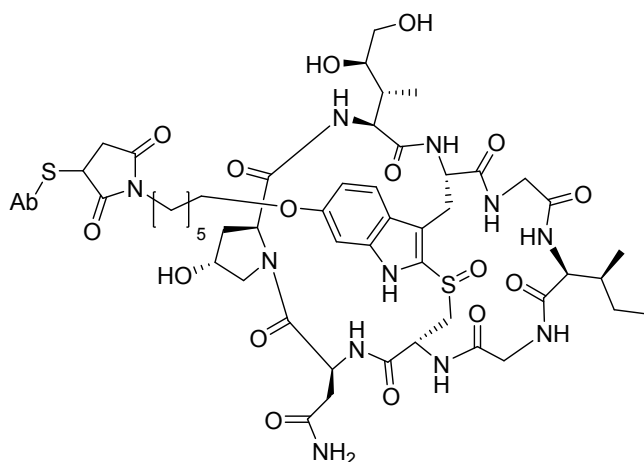
10 En algunas realizaciones, el enlazador comprende una unidad $-(CH)_{2n}-$, donde n es un número entero de 2 a 6.

En algunas realizaciones, R_1 es el enlazador y R_2 es H, y el enlazador y el resto químico, juntos como L-Z, es

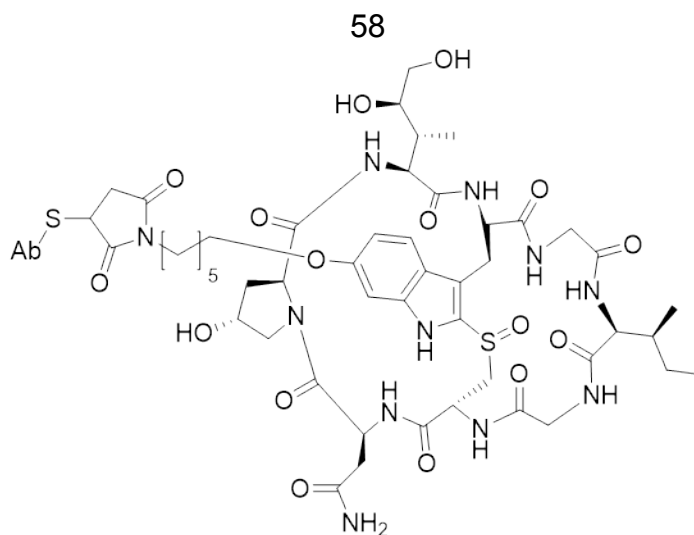


15

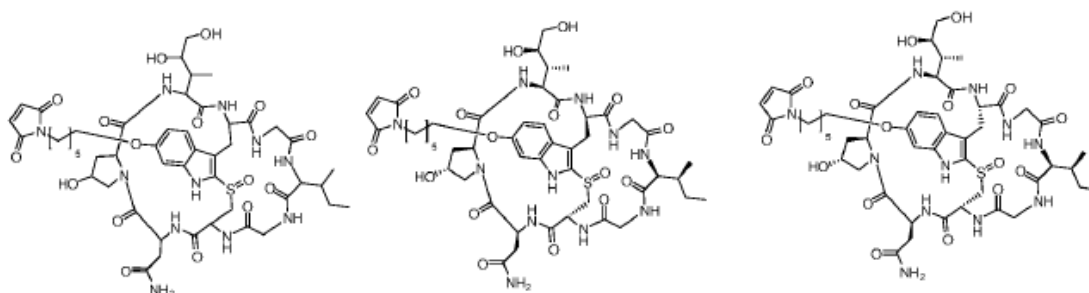
En algunas realizaciones, Ab-Z-L-Am es



En algunas realizaciones, Ab-Z-L-Am es



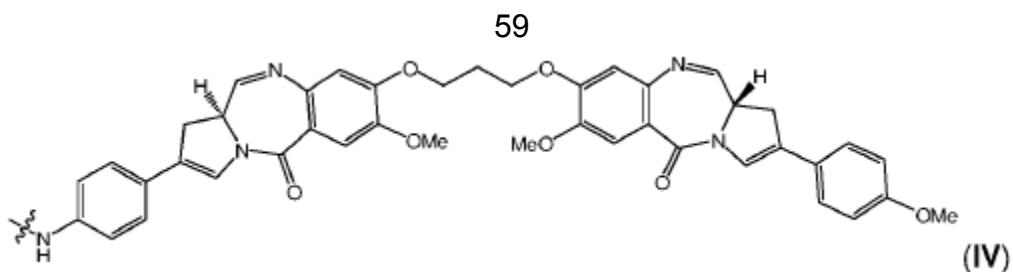
En algunas realizaciones, el precursor de Am-L-Z es uno de los siguientes:



5 en donde la maleimida reacciona con un grupo tiol encontrado en una cisteína en el anticuerpo.

En algunas realizaciones, la citotoxina es un maitansinoide seleccionado entre el grupo que consiste en DM1 y DM4. En algunas realizaciones, la citotoxina es una auristatina seleccionada entre el grupo que consiste en monometil auristatina E y monometil auristatina F. En algunas realizaciones, la citotoxina es una antraciclina seleccionada entre el grupo que consiste en daunorrubicina, doxorubicina, 10 epirubicina e idarrubicina.

En algunas realizaciones, la citotoxina es un dímero de pirrolobenzodiacepina representado por la fórmula (IV):



En algunas realizaciones, la citotoxina se conjuga con el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo, por medio de un enlazador de maleimidocaproílo.

5

En algunas realizaciones, la citotoxina es una auristatina seleccionada entre el grupo que consiste en monometil auristatina E y monometil auristatina F.

10

En algunas realizaciones, la citotoxina es una antraciclina seleccionada entre el grupo que consiste en daunorrubicina, doxorubicina, epirubicina e idarrubicina.

15

En otro aspecto, la invención presenta una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de los aspectos o realizaciones anteriores de la invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

20

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se formula para la administración a un paciente humano por vía transdérmica, subcutánea, intranasal, intravenosa, intramuscular, intraocular, intratumoral, parenteral, tópica, intratecal o intracerebroventricular.

25

Breve descripción de las figuras

La **Fig. 1** representa gráficamente los resultados de un ensayo de unión a la estirpe celular *in vitro* en el que cada

uno de los anticuerpos anti-CD2 indicados o un control negativo (es decir, mIgG1) se incubó con células MOLT-4 (es decir, una estirpe celular de linfoblastos T humanos) seguido de la incubación de un anticuerpo anti-IgG conjugado con fluoróforo.

5 La señal se detectó a través de citometría de flujo y se indica como la intensidad de fluorescencia media geométrica (eje y) en función de la concentración de anticuerpos anti-CD2 (eje x).

10 La **Fig. 2** representa gráficamente los resultados de un ensayo de unión de células primarias *in vitro* en el que los anticuerpos anti-CD2 indicados (RPA-2.10) o un control negativo (es decir, mIgG1) se incubó con linfocitos T humanos primarios seguido de la incubación de un anticuerpo anti-IgG conjugado
15 con fluoróforo. La señal se detectó a través de citometría de flujo y se indica como la intensidad de fluorescencia media geométrica (eje y) en función de la concentración de anticuerpos anti-CD2 (eje x).

20 Las **Fig. 3A y 3B** representan gráficamente los resultados de un ensayo de destrucción de linfocitos T *in vitro* que incluye un ADC anti-CD2-amanitina (es decir, RPA-2.10-AM o "CD2 AM") que tiene una amanitina conjugada entre cadenas con una relación promedio de fármaco a anticuerpo de 6 (Fig. 3A) o una
25 relación de fármaco a anticuerpo de amanitina conjugada específica de sitio de 2 (Fig. 3B). En la Fig. 3A, el análisis de destrucción de linfocitos T de ADC anti-CD2 se muestra en comparación con un anticuerpo anti-CD2 no conjugado (es decir, "CD2 desnudo"). En la Fig. 3B, se muestran los resultados del
30 anticuerpo anti-CD2 en comparación con un anticuerpo anti-CD2 que tiene una mutación H435A que disminuye la semivida del

anticuerpo. Los resultados muestran el número de linfocitos T viables (eje y) en función de la concentración de ADC (CD2 RPA-2.10 AM, CD2 D265C.H435A AM) o anticuerpo no conjugado (CD2 RPA-2.10) (eje x) como se evaluó usando citometría de flujo.

5

La **Fig. 4** representa gráficamente los resultados de un ensayo *in vitro* de destrucción de linfocitos citolíticos naturales (NK) que incluye un ADC anti-CD2-amanitina (es decir, RPA-2.10-AM o "CD2 AM") que tiene una amanitina conjugada entre cadenas con relación de fármaco a anticuerpo de 6. Los resultados muestran los niveles de linfocitos NK viables (eje y) en función de la concentración de ADC (CD2-AM) o anticuerpo de control (es decir, hIgG1, hIgG1-amanitina ("hIgG1-AM")) (eje x) según lo evaluado usando un ensayo CellTiter Glo.

15

Las **Fig. 5A y 5B** representan gráficamente los resultados de un ensayo de agotamiento de linfocitos T *in vivo* que muestra los niveles absolutos de linfocitos T (células CD3+; eje y) en la sangre periférica (Fig. 5A) y la médula ósea (Fig. 5B) de ratones NSG humanizados 7 días después de una administración única de 0,3 mg/kg, 1 mg/kg o 3 mg/kg de un ADC anti-CD2-amanitina (es decir, RPA-2.10-AM) que tiene una relación de fármaco a anticuerpo entre cadenas de 6. Para comparación, las Figs. 5A y 5B también muestran el nivel de agotamiento de linfocitos T después del tratamiento de ratones NSG humanizados con Ab1 25 mg/kg (un anticuerpo anti-CD2 no conjugado) o con los controles indicados (es decir, 25 mg/kg de anticuerpo anti-CD52 (clon YTH34.5); ADC hIgG1-amanitina 3 mg/kg ("hIgG1-AM"), hIgG1 25 mg/kg o PBS).

30

Las **Fig. 6A-6C** representan gráficamente los resultados de

un ensayo de agotamiento de linfocitos T *in vivo* que muestra los niveles absolutos de linfocitos T (células CD3+; eje y) en la sangre periférica (Fig. 6A), médula ósea (Fig. 6B) y timo (Fig. 6C) de ratones NSG humanizados 7 días después de una administración única de 1 mg/kg o 3 mg/kg de un ADC anti-CD2-amanitina (es decir, RPA-2.10-AM) que tiene una relación de fármaco a anticuerpo específica de sitio de aproximadamente 2. A modo de comparación, las Fig. 6A-6C también muestran el nivel de agotamiento de linfocitos T después del tratamiento de ratones NSG humanizados con 3 mg/kg de un anticuerpo anti-CD2 no conjugado o con los controles indicados (es decir, ADC hIgG1-amanitina 3 mg/kg ("hIgG1-AMC") o PBS).

Descripción detallada

La presente invención se basa en parte en el descubrimiento de que los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se unen a CD2 (también denominado antígeno de superficie de linfocitos T, LFA-2 y receptor de LFA-3) pueden usarse como agentes terapéuticos para (i) tratar directamente los cánceres y las enfermedades autoinmunitarias caracterizadas por células CD2+ y (ii) promover el injerto de células madre hematopoyéticas trasplantadas a un paciente que necesite terapia de trasplante agotando las poblaciones de células inmunitarias que reaccionan de forma cruzada y generan una respuesta inmunitaria contra injertos de células madre hematopoyéticas (por ejemplo, reaccionando de forma cruzada con antígenos de MHC no propios expresados por el injerto de células madre hematopoyéticas). Estas actividades terapéuticas pueden surgir, por ejemplo, mediante la unión de anticuerpos anti-CD2 o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, a CD2 expresado en la superficie de una célula, tal como una célula

cancerosa, célula autoinmunitaria o célula inmunitaria que reaccionan de forma cruzada con un antígeno de células madre hematopoyéticas no propio (por ejemplo, un antígeno de MHC no propio), induciendo por tanto la muerte de la célula unida. En

5 el caso de agotar una población de células cancerosas o células autoinmunitarias, el anticuerpo anti-CD2, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, puede usarse para tratar directamente un cáncer o una enfermedad autoinmunitaria, tal como un cáncer o enfermedad autoinmunitaria que se describe en

10 el presente documento. En el caso de agotar una población de células inmunitarias que reaccionan de forma cruzada con un antígeno de células madre hematopoyéticas no propio, el anticuerpo anti-CD2, fragmento de unión a antígeno del mismo, puede usarse para prevenir o reducir la probabilidad de rechazo

15 del injerto en un paciente que padece un trastorno de células madre, cáncer o enfermedad autoinmunitaria y que está recibiendo terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas. En casos de este tipo, el agotamiento de células inmunitarias CD2+ que reaccionan de forma cruzada con

20 uno o más antígenos de células madre hematopoyéticas no propios (por ejemplo, uno o más antígenos de MHC no propios) permite el injerto satisfactorio de células madre hematopoyéticas trasplantadas al receptor del trasplante. A medida que las células trasplantadas se injertan, pueden albergar tejido

25 hematopoyético, donde puede producirse una hematopoyesis productiva. Las células madre hematopoyéticas trasplantadas pueden originar posteriormente una población de células que es deficiente o defectuosa en el receptor del trasplante, tal como megacariocitos, trombocitos, plaquetas, eritrocitos,

30 mastocitos, mioblastos, basófilos, neutrófilos, eosinófilos, microglía, granulocitos, monocitos, osteoclastos, células

presentadoras de antígeno, macrófagos, células dendríticas, linfocitos citolíticos naturales, linfocitos T y linfocitos B. De esta manera, los anticuerpos anti-CD2, o los fragmentos de los mismos, pueden usarse para promover el injerto

5 satisfactorio de células madre hematopoyéticas en un paciente, tal como un paciente humano que padece un trastorno de células madre que se describe en el presente documento.

Definiciones

10 Como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" se refiere a un valor que está dentro del 10 % por encima o por debajo del valor que se describe. Por ejemplo, la expresión "aproximadamente 5 nM" indica un

15 intervalo de 4,5 nM a 5,5 nM.

Como se usa en el presente documento, el término "amatoxina" se refiere a un miembro de la familia amatoxina de péptidos producidos por los hongos *Amanita phalloides*, una

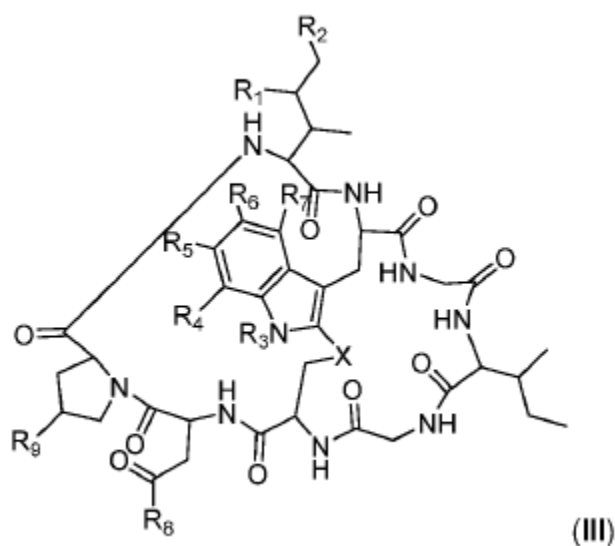
20 amatoxina sintética, una variante de amatoxina, o un derivado de la misma, tal como una variante o derivado de la misma capaz de inhibir la actividad ARN polimerasa II. También se incluyen amatoxinas sintéticas (véase, por ejemplo, la Patente de los EE.UU. N.º 9676702, incorporada como referencia en el presente

25 documento). Como se describe en el presente documento, las amatoxinas pueden conjugarse con un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo, por ejemplo, por medio de un resto enlazador (L) (formando de este modo un conjugado (también denominado conjugado fármaco-anticuerpo (ADC, por sus

30 siglas en inglés)). Los métodos de ejemplo de conjugación con amatoxina y los enlazadores útiles para dichos procesos se describen a continuación. También se describen en el presente

documento amatoxinas que contienen enlazador de ejemplo útiles para la conjugación con un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno, de acuerdo con las composiciones y métodos.

5 En determinadas realizaciones, las amatoxinas útiles junto con las composiciones y métodos que se describen en el presente documento incluyen compuestos de acuerdo con la fórmula (III), α -amanitina, β -amanitina, γ -amanitina, ε -amanitina, amanina, amaninamida, amanulina, ácido amanulínico y proamanulina. La fórmula (III) es como se expone a
10 continuación:



en donde R₁ es H, OH u OR_A;

R₂ es H, OH u OR_B;

15 R_A y R_B, cuando están presentes, junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente sustituido;

R₃ es H o R_D;

20 R₄ es H, OH, OR_D o R_D;

R₅ es H, OH, OR_D o R_D;

R₆ es H, OH, OR_D o R_D;

R₇ es H, OH, OR_D o R_D;

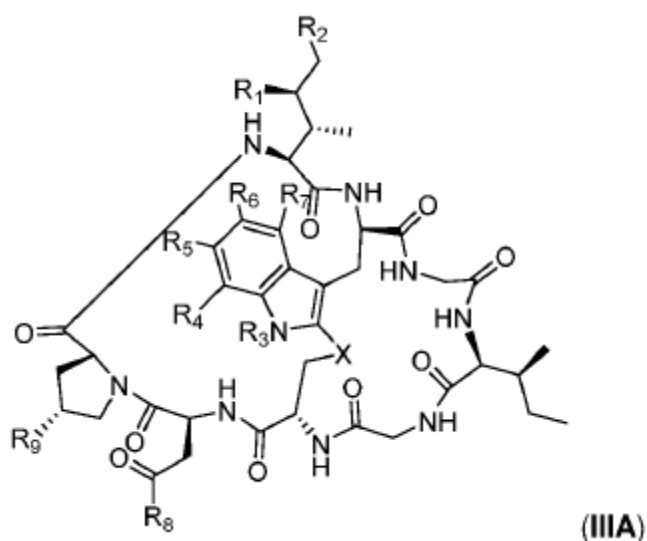
R₈ es OH, NH₂ u OR_D;

R_9 es H, OH u OR_D ;

X es $-S-$, $-S(O)-$ o $-SO_2-$; y

R_D es alquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquilo C_1-C_6), heteroalquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquilo C_1-C_6), alquenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquenilo C_2-C_6), heteroalquenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenilo C_2-C_6), alquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinilo C_2-C_6), heteroalquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquinilo C_2-C_6), cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido.

Por ejemplo, en una realización, las amatoxinas útiles junto con las composiciones y métodos que se describen en el presente documento incluyen compuestos de acuerdo con la fórmula (IIIA), a continuación:



en donde R_1 es H, OH u OR_A ;

R_2 es H, OH u OR_B ;

R_A y R_B , cuando están presentes, junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente

sustituido;

R_3 es H o R_D ;

R_4 es H, OH, OR_D o R_D ;

R_5 es H, OH, OR_D o R_D ;

5 R_6 es H, OH, OR_D o R_D ;

R_7 es H, OH, OR_D o R_D ;

R_8 es OH, NH_2 u OR_D ;

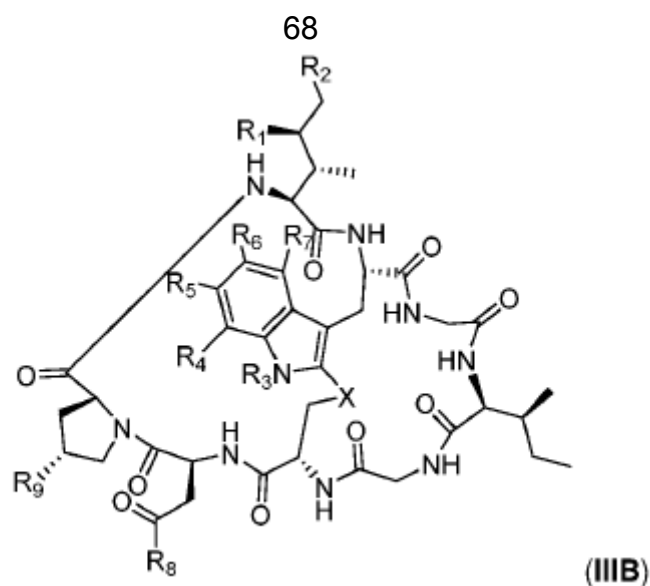
R_9 es H, OH u OR_D ;

X es -S-, -S(O)- o -SO₂-; y

10 R_D es alquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquilo C₁-C₆), heteroalquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquilo C₁-C₆), alquenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquenilo C₂-C₆), heteroalquenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenilo C₂-C₆),
 15 alquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinilo C₂-C₆), heteroalquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquinilo C₂-C₆), cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente
 20 sustituido.

En una realización, las amatoxinas útiles junto con las composiciones y métodos que se describen en el presente documento también incluyen compuestos de acuerdo con la fórmula

25 **(IIIB)**, a continuación:



en donde R_1 es H, OH u OR_A ;

R_2 es H, OH u OR_B ;

R_A y R_B , cuando están presentes, junto con los átomos de
 5 oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un
 grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente
 sustituido;

R_3 es H o R_D ;

R_4 es H, OH, OR_D o R_D ;

10 R_5 es H, OH, OR_D o R_D ;

R_6 es H, OH, OR_D o R_D ;

R_7 es H, OH, OR_D o R_D ;

R_8 es OH, NH_2 u OR_D ;

R_9 es H, OH u OR_D ;

15 X es $-S-$, $-S(O)-$ o $-SO_2-$; y

R_D es alquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo,
 alquilo C_1-C_6), heteroalquilo opcionalmente sustituido (por
 ejemplo, heteroalquilo C_1-C_6), alquenilo opcionalmente
 sustituido (por ejemplo, alquenilo C_2-C_6), heteroalquenilo
 20 opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenilo C_2-C_6),
 alquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinilo C_2-
 C_6), heteroalquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo,
 heteroalquinilo C_2-C_6), cicloalquilo opcionalmente sustituido,
 heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo

opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido.

Como se describe en el presente documento, las amatoxinas
5 pueden conjugarse con un anticuerpo o un fragmento de unión a
antígeno del mismo, por ejemplo, por medio de un resto
enlazador. Se describen métodos de ejemplo de conjugación de
amatoxina y enlazadores útiles para dichos procesos en la
sección titulada "Enlazadores para conjugación química", así
10 como en la Tabla 1, a continuación. Se muestran amatoxinas que
contienen enlazadores de ejemplo útiles para la conjugación
con un anticuerpo anti-CD2, un fragmento de unión a antígeno,
de acuerdo con las composiciones y métodos que se describen en
el presente documento, en las fórmulas estructurales (I), (IA),
15 (IB), (II), (IIA) y (IIB) que se mencionan en el presente
documento.

Como se usa en el presente documento, el término
"anticuerpo" se refiere a una molécula de inmunoglobulina que
20 se une específicamente a un antígeno particular o es
inmunológicamente reactiva con el mismo. Los ejemplos de
anticuerpos incluyen anticuerpos policlonales, monoclonales,
genéticamente modificados y modificados de otra forma,
incluyendo, pero sin limitación, anticuerpos quiméricos,
25 anticuerpos humanizados, anticuerpos heteroconjugados (por
ejemplo, anticuerpos bi, tri y cuatriespecíficos, diacuerpos,
triacuerpos y tetracuerpos) y fragmentos de unión a antígeno
de anticuerpos, incluyendo, por ejemplo, fragmentos Fab',
F(ab')₂, Fab, Fv, rIgG y scFv. Como se usan en el presente
30 documento, los fragmentos Fab y F(ab')₂ se refieren a
fragmentos de anticuerpo que carecen del fragmento Fc de un

anticuerpo intacto. En el presente documento se describen ejemplos de estos fragmentos de anticuerpo.

Generalmente, los anticuerpos comprenden cadenas pesadas y ligeras que contienen regiones de unión a antígeno. Cada cadena pesada está formada por una región variable de la cadena pesada (abreviada en el presente documento como HCVR o VH) y una región constante de la cadena pesada. La región constante de la cadena pesada se compone de tres dominios, CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera se compone de una región variable de la cadena ligera (abreviada en el presente documento como LCVR o VL) y una región constante de la cadena ligera. La región constante de la cadena ligera se compone de un dominio, CL. Las regiones VH y VL pueden subdividirse adicionalmente en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR, por sus siglas en inglés), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco conservadas (FR, por sus siglas en inglés). Cada VH y VL se compone de tres CDR y cuatro FR, dispuestas del extremo amino al extremo carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. Las regiones variables de las cadenas pesadas y ligeras contienen un dominio de unión que interactúa con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos pueden mediar la unión de la inmunoglobulina a los tejidos o factores del hospedador, incluyendo diversas células del sistema inmunitario (por ejemplo, células efectoras) y el primer componente (Clq) del sistema del complemento clásico.

La expresión "fragmento de unión a antígeno", como se usa en el presente documento, se refiere a una molécula distinta

de un anticuerpo intacto que comprende una porción de un anticuerpo intacto y que se une al antígeno al que se une el anticuerpo intacto. La función de unión a antígeno de un anticuerpo puede realizarse mediante fragmentos de un anticuerpo de longitud completa. Los fragmentos de anticuerpos pueden ser, por ejemplo, un Fv, Fab, Fab', F(ab')₂, scFv, diacuerpo, un triacuerpo, moléculas de anticuerpos monocatenarios (por ejemplo, ScFv), un aficuerpo, un nanocuerpo, un aptámero o un anticuerpo de dominio. Los ejemplos de fragmentos de unión incluidos en la expresión "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo incluyen, pero sin limitación: (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste en los dominios V_L, V_H, C_L y C_H1; (ii) un fragmento F(ab')₂, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos mediante un puente disulfuro en la región bisagra; (iii) un fragmento Fd que consiste en los dominios V_H y C_H1; (iv) un fragmento Fv que consiste en los dominios V_L y V_H de un solo brazo de un anticuerpo, (v) un dAb que incluye dominios V_H y V_L; (vi) un fragmento de dAb que consiste en un dominio V_H (véase, por ejemplo, Ward et al., *Nature* 341: 544-546, 1989); (vii) un dAb que consiste en un dominio V_H o un dominio V_L; (viii) una región determinante de la complementariedad aislada (CDR); y (ix) una combinación de dos o más (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco o seis) CDR aisladas que pueden unirse opcionalmente mediante un enlazador sintético. Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv, V_L y V_H, están codificados por genes separados, pueden unirse, usando métodos recombinantes, mediante un enlazador que les permite formarse como una única cadena de proteínas en la que las regiones V_L y V_H se aparean para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv monocatenario (scFv); véase, por ejemplo, Bird et al.,

Science 242: 423-426, 1988 y Huston et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 5879-5883, 1988). Estos fragmentos de anticuerpo pueden obtenerse usando técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia y puede evaluarse sistemáticamente la utilidad de los anticuerpos del mismo modo que los anticuerpos intactos. Los fragmentos de unión a antígeno pueden producirse mediante técnicas de ADN recombinante, escisión enzimática o química de inmunoglobulinas intactas, o, en determinados casos, mediante procedimientos de síntesis peptídica química conocidos en la técnica.

Como se usa en el presente documento, la expresión "anticuerpo anti-CD2" o "un anticuerpo que se une a CD2" se refiere a un anticuerpo que se une específicamente a CD2. Un anticuerpo "que se une" a un antígeno de interés, es decir, CD2, es uno capaz de unirse a ese antígeno con afinidad suficiente de manera que el anticuerpo sea útil para dirigirse a una célula que expresa el antígeno. En una realización preferida, el anticuerpo se une específicamente a CD2 humano (hCD2). CD2 se encuentra en la superficie celular de células inmunitarias, tales como linfocitos T. La secuencia de aminoácidos de CD2 humano al que se uniría un anticuerpo anti-CD2 (o conjugado anti-CD2) se describe a continuación en la SEQ ID NO: 13.

Como se usa en el presente documento, la expresión "anticuerpo biespecífico" se refiere a un anticuerpo híbrido que tiene dos sitios de unión a antígeno diferentes. Los anticuerpos biespecíficos son una especie de anticuerpo multiespecífico y pueden producirse mediante una diversidad de métodos que incluyen, pero sin limitación, fusión de hibridomas

o unión de fragmentos Fab'. Véase, por ejemplo, Songsivilai y Lachmann, 1990, *Clin. Exp. Immunol.* 79: 315-321; Kostelny et al., 1992, *J. Immunol.* 148: 1547-1553. Los dos sitios de unión de un anticuerpo biespecífico se unirán a dos epítopos diferentes, que pueden residir en las mismas o diferentes proteínas diana. Por ejemplo, una de las especificidades de unión puede dirigirse hacia un antígeno de superficie de linfocito T, tal como CD2, la otra puede ser para un antígeno de superficie de linfocito T diferente u otra proteína de superficie celular, tal como un receptor o una subunidad de receptor implicados en una vía de transducción de señales que potencia el crecimiento celular, entre otros.

Como se usa en el presente documento, la expresión "región determinante de complementariedad" (CDR) se refiere a una región hipervariable que se encuentra en los dominios variables tanto de la cadena ligera como de la cadena pesada de un anticuerpo. Las porciones más altamente conservadas de los dominios variables se denominan regiones marco conservadas (Fc). Las posiciones de aminoácidos que delinean una región hipervariable de un anticuerpo pueden variar, dependiendo del contexto y las diversas definiciones conocidas en la técnica. Algunas posiciones en un dominio variable pueden considerarse posiciones hipervariables híbridas en tanto que estas posiciones pueden considerarse dentro de una región hipervariable según un conjunto de criterios, mientras que se considera fuera de una región hipervariable según un conjunto de criterios diferente. También pueden encontrarse una o más de estas posiciones en las regiones hipervariables extendidas. Los anticuerpos que se describen en el presente documento pueden contener modificaciones en estas posiciones

hipervariables híbridas. Los dominios variables de las cadenas pesadas y ligeras nativas comprenden cada uno cuatro regiones marco conservadas que adoptan principalmente una configuración de lámina β , conectadas por tres CDR, que forman bucles que se conectan y, en algunos casos, forman parte de la estructura de lámina β . Las CDR en cada cadena se mantienen juntas en estrecha proximidad por las regiones marco conservadas en el orden FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 y, con las CDR de las otras cadenas de anticuerpos, contribuyen a la formación del sitio de unión a la diana de los anticuerpos (véase Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, National Institute of Health, Bethesda, MD., 1987). Como se usa en el presente documento, la numeración de los restos de aminoácidos de inmunoglobulina se realiza de acuerdo con el sistema de numeración de restos de aminoácidos de inmunoglobulina de Kabat et al., a menos que se indique otra cosa.

Como se usa en el presente documento, los términos "condición" y "acondicionamiento" se refieren a procesos mediante los cuales se prepara a un paciente para la recepción de un trasplante que contiene células madre hematopoyéticas. Dichos procedimientos promueven el injerto de un trasplante de células madre hematopoyéticas (por ejemplo, como se deduce por un aumento sostenido en la cantidad de células madre hematopoyéticas viables en una muestra de sangre aislada de un paciente después de un procedimiento de acondicionamiento y el trasplante posterior de células madre hematopoyéticas). De acuerdo con los métodos que se describen en el presente documento, un paciente puede acondicionarse para la terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas mediante la administración al paciente de un anticuerpo, o fragmento de

unión a antígeno del mismo, capaz de unirse a un antígeno expresado por los linfocitos T, tal como CD2. Como se describe en el presente documento, el anticuerpo anti-CD2 puede conjugarse covalentemente con una citotoxina para formar un conjugado anticuerpo-fármaco. La administración de un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno del mismo o conjugado anticuerpo-fármaco capaz de unir uno o más de los antígenos anteriores a un paciente que necesite terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas puede promover el injerto de un injerto de células madre hematopoyéticas, por ejemplo, agotando selectivamente células inmunitarias endógenas, tales como linfocitos T CD2+ (por ejemplo, linfocitos T CD4+ y/o CD8+) y/o linfocitos NK CD2+ que reaccionan de forma cruzada con uno o más antígenos no propios expresados por una célula madre hematopoyética (por ejemplo, uno o más antígenos de MHC no propios). Este agotamiento selectivo de células inmunitarias a su vez evita o reduce la probabilidad de rechazo del injerto después del trasplante de un injerto de células madre hematopoyéticas exógenas (por ejemplo, autólogas, alogénas o singénicas).

Como se usa en el presente documento, el término "conjugado" se refiere a un compuesto formado por el enlace químico de un grupo funcional reactivo de una molécula, tal como un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, con un grupo funcional adecuadamente reactivo de otra molécula, tal como una citotoxina que se describe en el presente documento. Los conjugados pueden incluir un enlazador entre las dos moléculas (por ejemplo, anticuerpo anti-CD2 y una citotoxina) unidas entre sí. Los ejemplos de enlazadores que pueden usarse para la formación de un conjugado incluyen

enlazadores que contienen péptidos, tales como los que contienen aminoácidos de origen natural o no natural, tales como D-aminoácidos. Los enlazadores pueden prepararse usando una diversidad de estrategias que se describen en el presente documento y se conocen en la técnica. Dependiendo de los componentes reactivos en el mismo, un enlazador puede escindirse, por ejemplo, mediante hidrólisis enzimática, fotólisis, hidrólisis en condiciones ácidas, hidrólisis en condiciones básicas, oxidación, reducción de disulfuro, escisión nucleófila o escisión organometálica (véase, por ejemplo, Leriche et al., *Bioorg. Med. Chem.*, 20: 571-582, 2012).

Como se usa en el presente documento, la expresión "reacción de acoplamiento" se refiere a una reacción química en la que dos o más sustituyentes adecuados para la reacción entre sí reaccionan para formar un resto químico que une (por ejemplo, covalentemente) los fragmentos moleculares unidos a cada sustituyente. Las reacciones de acoplamiento incluyen aquellas en las que un sustituyente reactivo unido a un fragmento que es una citotoxina, tal como una citotoxina conocida en la técnica o que se describe en el presente documento, reacciona con un sustituyente adecuadamente reactivo unido a un fragmento que es un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno del mismo o anticuerpo, tal como un anticuerpo, fragmento de unión a antígeno del mismo o anticuerpo específico para CD2 conocido en la técnica o que se describe en el presente documento. Los ejemplos de sustituyentes adecuadamente reactivos incluyen un par nucleófilo/electrófilo (por ejemplo, un par tiol/haloalquilo, un par amina/carbonilo o un par tiol/carbonilo α,β -insaturado,

entre otros), un par dieno/dienófilo (por ejemplo, un par azida/alquino, entre otros) y similares. Las reacciones de acoplamiento incluyen, sin limitación, alquilación de tiol, alquilación de hidroxilo, alquilación de amina, condensación de amina, amidación, esterificación, formación de disulfuro, cicloadición (por ejemplo, cicloadición de Diels-Alder [4+2], cicloadición de Huisgen [3+2], entre otros), sustitución nucleófila aromática, sustitución electrófila aromática y otras modalidades reactivas conocidas en la técnica o que se describen en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, "URC (unidad de repoblación competitiva)" se refiere a una unidad de medida de injerto a largo plazo de células madre, que puede detectarse después del trasplante *in vivo*.

Como se usa en el presente documento, "relación fármaco/anticuerpo" o "DAR" se refiere al número de citotoxinas, por ejemplo, amatoxina, unidas al anticuerpo de un ADC. La DAR de un ADC puede variar de 1 a 8, aunque también son posibles cargas más altas dependiendo del número de sitios de unión en un anticuerpo. Por tanto, en determinadas realizaciones, un ADC que se describe en el presente documento tiene una DAR de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8.

25

Como se usa en el presente documento, el término "donante" se refiere a un ser humano o animal del que se aíslan una o más células antes de la administración de las células o la progenie de las mismas a un receptor. La una o más células pueden ser, por ejemplo, una población de células madre hematopoyéticas.

30

Como se usa en el presente documento, el término "diacuerpo" se refiere a un anticuerpo bivalente que contiene dos cadenas polipeptídicas, en el que cada cadena polipeptídica incluye dominios V_H y V_L unidos por un enlazador que es demasiado corto (por ejemplo, un enlazador compuesto por cinco aminoácidos) para permitir la asociación intramolecular de dominios V_H y V_L en la misma cadena peptídica. Esta configuración fuerza a que cada dominio se aparee con un dominio complementario en otra cadena de polipéptido a fin de formar una estructura homodimérica. En consecuencia, el término "triacuerpo" se refiere a anticuerpos trivalentes que comprenden tres cadenas peptídicas, cada una de las cuales contiene un dominio V_H y un dominio V_L unidos por un enlazador que es extremadamente corto (por ejemplo, un enlazador compuesto por 1-2 aminoácidos) para permitir la asociación intramolecular de dominios V_H y V_L dentro de la misma cadena peptídica. Con el fin de plegarse en sus estructuras nativas, los péptidos configurados de esta manera normalmente se trimerizan para posicionar los dominios V_H y V_L de las cadenas peptídicas vecinas espacialmente próximos entre sí (véase, por ejemplo, Holliger et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6444-48, 1993).

Como se usa en el presente documento, una "inmunoglobulina de dominio variable doble" ("DVD-lg") se refiere a una proteína de unión a antígeno que combina los dominios variables de unión a diana de dos anticuerpos por medio de enlazadores para crear un agente único tetravalente de doble diana (véase, por ejemplo, Gu et al., *Meth. Enzymol.*, 502: 25-41, 2012).

Como se usa en el presente documento, el término

"endógeno" describe una sustancia, tal como una molécula, célula, tejido u órgano (por ejemplo, una célula madre hematopoyética o una célula de linaje hematopoyético, tal como un megacariocito, trombocito, plaqueta, eritrocito, mastocito, mioblasto, basófilo, neutrófilo, eosinófilo, célula de la microglía, granulocito, monocito, osteoclasto, célula presentadora de antígeno, macrófago, célula dendrítica, linfocito citolítico natural, linfocito T (por ejemplo, un linfocito T CD4+ o CD8+) o linfocito B) que se encuentra de forma natural en un organismo particular, tal como un paciente humano, por ejemplo, un paciente humano sometido a una terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas como se describe en el presente documento.

Como se usa en el presente documento, la expresión "potencial de injerto" se usa para referirse a la capacidad de las células madre y progenitoras hematopoyéticas para repoblar un tejido, ya sea que dichas células circulen de forma natural o se proporcionen mediante trasplante. La expresión abarca todos los eventos que rodean o conducen al injerto, tales como el alojamiento de células en el tejido y la colonización de células dentro del tejido de interés. La eficiencia o tasa de injerto puede evaluarse o cuantificarse usando cualquier parámetro clínicamente aceptable conocido por los expertos en la materia y puede incluir, por ejemplo, la evaluación de unidades de repoblación competitivas (URC); la incorporación o la expresión de un marcador en un tejido o tejidos en los que las células madre se han alojado, colonizado o se han injertado; o mediante la evaluación del progreso de un sujeto a través de la progresión de la enfermedad, la supervivencia de las células madre y progenitoras hematopoyéticas o la

supervivencia de un receptor. El injerto también puede determinarse midiendo los recuentos de glóbulos blancos en sangre periférica durante un periodo posterior al trasplante. El injerto también puede evaluarse midiendo la recuperación de células de la médula por células donantes en una muestra de aspirado de médula ósea.

Como se usa en el presente documento, el término "excipiente" se refiere a una sustancia formulada junto con el principio activo de un medicamento. Pueden incluirse, por ejemplo, con el fin de estabilización a largo plazo o conferir una potenciación terapéutica al principio activo en la forma farmacéutica final.

Como se usa en el presente documento, el término "exógeno" describe una sustancia, tal como una molécula, célula, tejido u órgano (por ejemplo, un linfocito T, una célula madre hematopoyética o una célula de linaje hematopoyético, tal como un megacariocito, trombocito, plaqueta, eritrocito, mastocito, mioblasto, basófilo, neutrófilo, eosinófilo, célula de la microglía, granulocito, monocito, osteoclasto, célula presentadora de antígeno, macrófago, célula dendrítica, linfocito citolítico natural, linfocito T o linfocito B) que no se encuentra de forma natural en un organismo particular, tal como un paciente humano. Las sustancias exógenas incluyen aquellas que se proporcionan por una fuente externa a un organismo o a materia cultivada extraída del mismo.

Como se usa en el presente documento, la expresión "región marco conservada" o "región FW" incluye restos de aminoácidos que son adyacentes a las CDR de un anticuerpo o fragmento de

unión a antígeno del mismo. Los restos de la región FW pueden estar presentes en, por ejemplo, anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados, anticuerpos monoclonales, fragmentos de anticuerpos, fragmentos Fab, fragmentos de anticuerpos monocatenarios, fragmentos scFv, dominios de anticuerpos y anticuerpos biespecíficos, entre otros.

Las expresiones "anticuerpo de longitud completa", "anticuerpo intacto" y "anticuerpo completo" se usan en el presente documento indistintamente para referirse a un anticuerpo que generalmente comprende al menos dos cadenas pesadas de longitud completa y dos cadenas ligeras de longitud completa, pero en algunos casos puede incluir menos cadenas, tal como los anticuerpos de origen natural en camélidos, que pueden comprender solamente cadenas pesadas.

Como se usa en el presente documento, la expresión "células madre hematopoyéticas" ("HSC", por sus siglas en inglés) se refiere a células sanguíneas inmaduras que tienen la capacidad de autorrenovarse y diferenciarse en células sanguíneas maduras que comprenden diversos linajes que incluyen, pero sin limitación, granulocitos (por ejemplo, promielocitos, neutrófilos), eosinófilos, basófilos), eritrocitos (por ejemplo, reticulocitos, eritrocitos), trombocitos (por ejemplo, megacarioblastos, megacariocitos productores de plaquetas, plaquetas), monocitos (por ejemplo, monocitos, macrófagos), células dendríticas, microglía, osteoclastos y linfocitos (por ejemplo, linfocitos NK, linfocitos B y linfocitos T). Además, las HSC también se refieren a HSC de repoblación a largo plazo (LT-HSC, por sus siglas en inglés) y HSC de repoblación a corto plazo (ST-HSC,

por sus siglas en inglés). LT-HSC y ST-HSC se diferencian en función del potencial funcional y de la expresión del marcador de la superficie celular. Por ejemplo, las HSC humanas son CD34+, CD38-, CD45RA-, CD90+, CD49F+ y lin- (negativas para

5 marcadores de linaje maduros, incluyendo CD2, CD3, CD4, CD7, CD8, CD10, CD11B, CD19, CD20, CD56 y CD235A). En ratones, las LT-HSC de médula ósea son CD34-, SCA-1+, C-kit+, CD135-, Slamf1/CD150+, CD48- y lin- (negativas para marcadores de linaje maduros, incluyendo Ter119, CD11b, Gr1, CD3, CD4, CD8,

10 B220 e IL7ra), mientras que las ST-HSC son CD34+, SCA-1+, C-kit+, CD135-, Slamf1/CD150+ y lin- (negativas para marcadores de linaje maduros, incluyendo Ter119, CD11b, Gr1, CD3, CD4, CD8, B220 e IL7ra). Además, las ST-HSC son menos quiescentes y más proliferativas que las LT-HSC en condiciones homeostáticas.

15 Sin embargo, las LT-HSC tienen un mayor potencial de autorrenovación (es decir, sobreviven durante la edad adulta y pueden trasplantarse en serie a través de receptores sucesivos), mientras que las ST-HSC tienen una autorrenovación limitada (es decir, sobreviven solo durante un período de

20 tiempo limitado) y no poseen potencial de trasplante en serie). Puede usarse cualquiera de estas HSC en los métodos que se describen en el presente documento. Las ST-HSC son particularmente útiles porque son altamente proliferativas y, por tanto, pueden originar más rápidamente una progenie

25 diferenciada.

Como se usa en el presente documento, la expresión "potencial funcional de células madre hematopoyéticas" se refiere a las propiedades funcionales de las células madre

30 hematopoyéticas incluyendo 1) multipotencia (que se refiere a la capacidad de diferenciarse en múltiples linajes sanguíneos

diferentes incluyendo, pero sin limitación, granulocitos (por ejemplo, promielocitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos), eritrocitos (por ejemplo, reticulocitos, eritrocitos), trombocitos (por ejemplo, megacarioblastos, plaquetas que producen megacariocitos, plaquetas), monocitos (por ejemplo, monocitos, macrófagos), células dendríticas, microglía, osteoclastos y linfocitos (por ejemplo, linfocitos NK, linfocitos B y linfocitos T), 2) autorrenovación (que se refiere a la capacidad de las células madre hematopoyéticas para originar células hijas que tengan un potencial equivalente al de la célula madre y más allá de esta capacidad puede producirse repetidamente a lo largo de la vida de un individuo sin agotamiento) y 3) la capacidad de las células madre hematopoyéticas o la progenie de las mismas para reintroducirse en un receptor de trasplante, tras lo cual se alojan en el nicho de células madre hematopoyéticas y restablecen la hematopoyesis productiva y sostenida.

Como se usan en el presente documento, las expresiones "antígenos de complejo mayor de histocompatibilidad" ("MHC", por sus siglas en inglés, también denominados "antígenos leucocitarios humanos" ("HLA", por sus siglas en inglés) en el contexto de seres humanos) se refieren a proteínas expresadas en la superficie celular que confieren una identidad antigénica única a una célula. Los antígenos MHC/HLA son moléculas diana reconocidas por los linfocitos T y los linfocitos NK como derivadas de la misma fuente de células madre hematopoyéticas que las células efectoras inmunitarias ("propias") o como derivadas de otra fuente de células reconstituyentes hematopoyéticas ("no propias"). Se reconocen dos clases principales de antígenos HLA: HLA de clase I y HLA de clase

II. Los antígenos HLA de clase I (A, B y C en seres humanos) hacen que cada célula sea reconocible como "propia", mientras que los antígenos HLA de clase II (DR, DP y DQ en seres humanos) están implicados en reacciones entre linfocitos y células presentadoras de antígenos. Ambos han sido implicados en el rechazo de órganos trasplantados. Un aspecto importante del sistema de genes de HLA es su polimorfismo. Cada gen, MHC de clase I (A, B y C) y MHC de clase II (DP, DQ y DR) existe en diferentes alelos. Los alelos de HLA se designan por números y subíndices. Por ejemplo, dos individuos no relacionados pueden portar HLA-B de clase I, genes B5 y Bw41, respectivamente. Los productos de genes alélicos difieren en uno o más aminoácidos en los dominios α y/o β . Se usan paneles grandes de anticuerpos específicos o reactivos de ácido nucleico para tipar los haplotipos de HLA de los individuos, usando leucocitos que expresan moléculas de clase I y de clase II. Los genes utilizados habitualmente para el tipado de HLA son las seis proteínas de MHC de Clase I y Clase II, dos alelos para cada uno de HLA-A; HLA-B y HLA-DR. Los genes de HLA se agrupan en un "superlocus" presente en la posición cromosómica 6p21, que codifica los seis genes de HLA de trasplante clásicos y al menos 132 genes codificantes de proteínas que tienen funciones importantes en la regulación del sistema inmunitario, así como algunos otros procesos moleculares y celulares fundamentales. El locus completo mide aproximadamente 3,6 Mb, con al menos 224 loci de genes. Un efecto de esta agrupación es que los "haplotipos", es decir, el conjunto de alelos presentes en un solo cromosoma, que se hereda de uno de los progenitores, tienden a heredarse como un grupo. El conjunto de alelos heredados de cada progenitor forma un haplotipo, en el que algunos alelos tienden a asociarse entre sí. La identificación

de los haplotipos de un paciente puede ayudar a predecir la probabilidad de encontrar donantes compatibles y ayudar a desarrollar una estrategia de búsqueda, porque algunos alelos y haplotipos son más comunes que otros y se distribuyen en
5 diferentes frecuencias en diferentes grupos raciales y étnicos.

Como se usa en el presente documento, la expresión "coincidente en HLA" se refiere a un par donante-receptor en el que ninguno de los antígenos HLA es no coincidente entre el
10 donante y el receptor, tal como un donante que proporciona un injerto de células madre hematopoyéticas a un receptor que necesite terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas. Los pares de donantes-receptores coincidentes en HLA (es decir, donde coinciden los 6 alelos) tienen un menor
15 riesgo de rechazo del injerto, ya que los linfocitos T y los linfocitos NK endógenos tienen menos probabilidades de reconocer el injerto entrante como extraño y, por tanto, son menos propensos a generar una respuesta inmunitaria contra el trasplante.

20

Como se usa en el presente documento, la expresión "no coincidente en HLA" se refiere a un par donante-receptor en el que al menos un antígeno HLA, en particular con respecto a HLA-A, HLA-B y HLA-DR, no coincide entre el donante y el receptor,
25 tal como un donante que proporciona un injerto de células madre hematopoyéticas a un receptor que necesite terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas. En algunas realizaciones, un haplotipo coincide y el otro no coincide. Los pares donante-receptor no coincidentes en HLA pueden tener
30 un mayor riesgo de rechazo del injerto con respecto a los pares donante-receptor coincidentes en HLA, ya que los linfocitos T

y los linfocitos NK endógenos tienen más probabilidades de reconocer el injerto entrante como extraño en el caso de un par donante-receptor no coincidente en HLA y dichos linfocitos T y linfocitos NK tienen más probabilidades de generar una
5 respuesta inmunitaria contra el trasplante.

Como se usa en el presente documento, la expresión "anticuerpo humano" se refiere a un anticuerpo en el que sustancialmente cada parte de la proteína (por ejemplo, todas
10 las CDR, regiones marco conservadas, dominios C_L , C_H (por ejemplo, C_{H1} , C_{H2} , C_{H3}), bisagra y dominios V_L y V_H) es sustancialmente no inmunógena en seres humanos, solamente con pequeños cambios o variaciones de secuencia. Un anticuerpo humano puede producirse *in vitro* en una célula humana (por
15 ejemplo, mediante expresión recombinante) o por un animal no humano o una célula procariota o eucariota que es capaz de expresar genes de inmunoglobulina humana funcionalmente reorganizados (tal como de cadena pesada y/o cadena ligera). Cuando un anticuerpo humano es un anticuerpo monocatenario,
20 puede incluir un péptido enlazador que no se encuentre en los anticuerpos humanos nativos. Por ejemplo, un Fv puede contener un péptido enlazador, tal como de dos a aproximadamente ocho restos de glicina u otros aminoácidos, que conecta la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena
25 ligera. Dichos péptidos enlazadores se consideran de origen humano. Los anticuerpos humanos pueden producirse mediante diversos métodos conocidos en la técnica que incluyen métodos de presentación en fagos usando bibliotecas de anticuerpos procedentes de secuencias de inmunoglobulina humana. Los
30 anticuerpos humanos también pueden producirse usando ratones transgénicos que son incapaces de expresar inmunoglobulinas

endógenas funcionales, pero que pueden expresar genes de inmunoglobulina humana (véanse, por ejemplo, las publicaciones PCT N.º WO1998/24893; WO1992/01047; WO1996/34096; WO1996/33735; las patentes de los Estados Unidos n.º 5.413.923; 5.625.126; 5.633.425; 5.569.825; 5.661.016; 5.545.806; 5.814.318; 5.885.793; 5.916.771; y 5.939.598). En una realización, se prepara un anticuerpo humano usando métodos recombinantes de manera que el patrón de glicosilación del anticuerpo sea diferente de un anticuerpo que tiene la misma secuencia si existiera en la naturaleza.

Como se usa en el presente documento, la expresión anticuerpo "humanizado" se refiere a un anticuerpo quimérico que generalmente comprende secuencias de aminoácidos de CDR no humanas y regiones marco conservadas humanas. En una realización, un anticuerpo humanizado es un anticuerpo humano (anticuerpo receptor) en el que los restos de las CDR del receptor se reemplazan por restos de las CDR de una especie no humana (anticuerpo donante) tal como ratón, rata, conejo o primates no humanos que tenga la especificidad, afinidad y/o capacidad deseadas. En general, un anticuerpo humanizado contiene sustancialmente todos de al menos uno, y normalmente dos, dominios variables, en los que todas o sustancialmente todas las regiones CDR corresponden a las de una inmunoglobulina no humana. Todas o sustancialmente todas las regiones FW también pueden ser las de una secuencia de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado también puede comprender al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina (Fc), normalmente la de una secuencia consenso de inmunoglobulina humana. Los métodos de humanización de anticuerpos son conocidos en la técnica y se han descrito, por

ejemplo, en Riechmann et al., *Nature* 332: 323-327, 1988; Patentes de los EE.UU. N.º: 5.530.101; 5.585.089; 5.693.761; 5.693.762; y 6.180.370.

5 Como se usa en el presente documento, la expresión "célula inmunitaria" se refiere a una célula del sistema inmunitario que participa en la generación y mantenimiento de una respuesta inmunitaria innata o adaptativa. Las células inmunitarias incluyen linfocitos que contienen un receptor que se une
10 específicamente y genera una respuesta inmunitaria contra un antígeno de interés, tal como un antígeno propio en el caso de una célula autoinmunitaria. Las células inmunitarias de ejemplo incluyen mastocitos, basófilos, neutrófilos, eosinófilos, microglía, granulocitos, monocitos, células presentadoras de
15 antígeno, macrófagos, células dendríticas, linfocitos citolíticos naturales, linfocitos T y linfocitos B.

 Como se usa en el presente documento, los pacientes que "necesitan" un trasplante de células madre hematopoyéticas
20 incluyen pacientes que presentan un defecto o deficiencia en uno o más tipos celulares sanguíneos, así como pacientes que tienen un trastorno de células madre. Las células madre hematopoyéticas generalmente presentan 1) multipotencia y, por tanto, pueden diferenciarse en múltiples linajes sanguíneos
25 diferentes, incluyendo, pero sin limitación, granulocitos (por ejemplo, promielocitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos), eritrocitos (por ejemplo, reticulocitos, eritrocitos), trombocitos (por ejemplo, megacarioblastos, megacariocitos productores de plaquetas, plaquetas), monocitos (por ejemplo,
30 monocitos, macrófagos), células dendríticas, microglía, osteoclastos y linfocitos (por ejemplo, linfocitos NK,

linfocitos B y linfocitos T), 2) autorrenovación y por tanto, pueden originar células hijas que tengan un potencial equivalente al de la célula madre y 3) la capacidad de reintroducirse en un receptor de trasplante, tras lo cual se

5 alojan en el nicho de células madre hematopoyéticas y restablecen la hematopoyesis productiva y sostenida. Por tanto, las células madre hematopoyéticas pueden administrarse a un paciente que tiene un defecto o una deficiencia en uno o más tipos celulares del linaje hematopoyético para reconstituir la

10 población defectuosa o deficiente de células *in vivo*. Por ejemplo, el paciente puede estar padeciendo cáncer y la deficiencia puede ser provocada por la administración de un agente quimioterápico u otro medicamento que agota, de manera selectiva o no específica, la población de células cancerosas.

15 Adicionalmente, o como alternativa, el paciente puede estar padeciendo una hemoglobinopatía no maligna que puede provocar un defecto o deficiencia en uno o más tipos celulares sanguíneos, tal como la anemia falciforme, la talasemia, la anemia de Fanconi y el síndrome de Wiskott-Aldrich.

20

El sujeto puede ser uno que padezca inmunodeficiencia combinada grave de adenosina desaminasa (IDCG ADA), VIH/SIDA, leucodistrofia metacromática, anemia de Diamond-Blackfan y síndrome de Schwachman-Diamond. El sujeto puede tener o estar

25 afectado por un trastorno hemático hereditario (por ejemplo, anemia de células falciformes) o un trastorno autoinmunitario. Adicionalmente, o como alternativa, el sujeto puede tener o estar afectado por una neoplasia maligna, tal como una neoplasia maligna seleccionada entre el grupo que consiste en

30 cánceres hemáticos (por ejemplo, leucemia, linfoma, mieloma múltiple o síndrome mielodisplásico) y neuroblastoma. En

algunas realizaciones, el sujeto tiene o está afectado por un trastorno metabólico. Por ejemplo, el sujeto puede sufrir o estar afectado por un trastorno metabólico seleccionado entre el grupo que consiste en enfermedades de almacenamiento de glucógeno, mucopolisacaridosis, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Hurler, esfingolipidosis, leucodistrofia metacromática o cualquier otra enfermedad o trastorno que pueda beneficiarse de los tratamientos y terapias que se desvelan en el presente documento, incluyendo, sin limitación, inmunodeficiencia combinada grave, síndrome de Wiscott-Aldrich, síndrome de hiperinmunoglobulina M (IgM), enfermedad de Chediak-Higashi, linfohistiocitosis hereditaria, osteopetrosis, osteogénesis imperfecta, enfermedades de almacenamiento, talasemia mayor, enfermedad de células falciformes, esclerosis sistémica, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, artritis reumatoide juvenil y aquellas enfermedades o trastornos que se describen en "*Bone Marrow Transplantation for Non-Malignant Disease*", *ASH Education Book*, 1: 319-338 (2000), cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad en lo que se refiere a las patologías que pueden tratarse mediante la administración de terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas. Adicionalmente, o como alternativa, un paciente que "necesita" un trasplante de células madre hematopoyéticas puede ser uno que esté padeciendo o no una de las patologías anteriores, pero que sin embargo presente un nivel reducido (por ejemplo, en comparación con el de un sujeto sano) de uno o más tipos celulares endógenos dentro del linaje hematopoyético, tal como megacariocitos, trombocitos, plaquetas, eritrocitos, mastocitos, mioblastos, basófilos, neutrófilos, eosinófilos, microglía, granulocitos,

monocitos, osteoclastos, células presentadoras de antígenos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos citolíticos naturales, linfocitos T y linfocitos B. Un experto en la materia puede determinar fácilmente si el nivel de uno o más

5 de los tipos celulares anteriores, u otro tipo de células sanguíneas, se reduce con respecto a un sujeto sano, por ejemplo, mediante citometría de flujo y métodos de clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS), entre otros procedimientos, conocidos en la técnica.

10

El término "aislado" cuando se usa en el contexto de una proteína, por ejemplo, un anticuerpo, se refiere a una proteína que en virtud de su origen o fuente de derivación no está asociada a componentes asociados de forma natural que la

15 acompañan en su estado nativo; está sustancialmente libre de otras proteínas de la misma especie; es expresada por una célula de una especie diferente; o no aparece en la naturaleza. Por tanto, una proteína que se sintetiza químicamente o que se sintetiza en un sistema celular diferente de la célula a partir

20 de la que se origina de forma natural se "aislará" de sus componentes asociados de forma natural. Una proteína también puede volverse sustancialmente libre de componentes asociados de forma natural mediante aislamiento, usando técnicas de purificación de proteínas bien conocidas en la técnica.

25

La expresión "anticuerpo monoclonal" o "mAb" se refiere a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos y/o se

30 unen al mismo epítipo, excepto por posibles variantes de anticuerpos, por ejemplo, mutaciones o variantes de origen

natural que surgen durante la producción de una preparación de anticuerpos monoclonales, donde dichas variantes pueden estar presentes en cantidades menores. A diferencia de las preparaciones de anticuerpos policlonales que normalmente incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítomos), cada mAb se dirige contra un único determinante en el antígeno. No debe interpretarse que el modificador "monoclonal" requiera la producción del anticuerpo por cualquier método concreto.

10

Como se usa en el presente documento, la expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas farmacéuticas, que son adecuados para el contacto con los tejidos de un sujeto, tal como un mamífero (por ejemplo, un ser humano) sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica y otras complicaciones problemáticas de forma proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable.

20

Como se usa en el presente documento, la expresión "composición farmacéutica" significa una mezcla que contiene un compuesto terapéutico que ha de administrarse a un sujeto, tal como un mamífero, por ejemplo, un ser humano, para prevenir, tratar o controlar una enfermedad o afección particular que afecta al mamífero, tal como un trastorno autoinmunitario, cáncer o trastorno de la sangre, entre otros, por ejemplo, como se describe en el presente documento.

25

Como se usa en el presente documento, el término "receptor" se refiere a un paciente que recibe un trasplante, tal como un trasplante que contiene una población de células

30

madre hematopoyéticas. Las células trasplantadas administradas a un receptor pueden ser, por ejemplo, células autólogas, singénicas o alógenas.

5 Como se usa en el presente documento, el término "rechazo" en el contexto de un trasplante, tal como un injerto de células madre hematopoyéticas, se refiere al proceso por el cual un receptor genera una respuesta inmunitaria contra un trasplante entrante, reduciendo de este modo la capacidad de la materia

10 trasplantada (por ejemplo, células madre hematopoyéticas) para persistir en el receptor. El rechazo de un injerto trasplantado, tal como un injerto de células madre hematopoyéticas, puede cuantificarse, por ejemplo, midiendo la cantidad o concentración de células trasplantadas en diversas

15 muestras aisladas de un paciente en distintos puntos temporales después del trasplante. Un hallazgo de que la cantidad o concentración de células trasplantadas en muestras aisladas del paciente disminuye a lo largo del tiempo, por ejemplo, en aproximadamente 20 %, aproximadamente 25 %, aproximadamente

20 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 56 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %,

25 aproximadamente 95 % o más, indica que el paciente padece rechazo de injerto. Por el contrario, un hallazgo de que la cantidad o concentración de células trasplantadas en muestras aisladas del paciente permanece estable con el tiempo, por ejemplo, disminuyendo menos de aproximadamente el 20 %,

30 aproximadamente el 15 %, aproximadamente el 10 %, aproximadamente el 5 % o menos, indica que el paciente no

padece rechazo del injerto. Como alternativa, el rechazo del injerto puede cuantificarse midiendo la cantidad o concentración de células inmunitarias, tales como los linfocitos T y/o los linfocitos NK, que reaccionan de forma cruzada con los antígenos de MHC expresados por las células trasplantadas en diversas muestras aisladas de un paciente en distintos puntos temporales después del trasplante. Un hallazgo de que la cantidad o concentración de células inmunitarias, tales como los linfocitos T y/o los linfocitos NK, que reaccionan de forma cruzada con antígenos de MHC expresados por las células trasplantadas en muestras aisladas del paciente aumenta con el tiempo, por ejemplo, en aproximadamente 10 %, aproximadamente 15 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 25 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 56 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 100 %, aproximadamente 200 %, aproximadamente 300 % o más, indica que el paciente sufre rechazo del injerto. Por el contrario, un hallazgo de que la cantidad o concentración de células inmunitarias, tales como los linfocitos T y/o los linfocitos NK, que reaccionan de forma cruzada con los antígenos de MHC expresados por las células trasplantadas en muestras aisladas del paciente disminuye con el tiempo, por ejemplo, en aproximadamente 20 %, aproximadamente 25 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 35 %, aproximadamente 40 %, aproximadamente 56 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 60 %, aproximadamente 65 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 75 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, aproximadamente 100 %, aproximadamente 200 %, aproximadamente 300 % o más, indica que el paciente no sufre rechazo del injerto.

aproximadamente 80 %, aproximadamente 85 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 % o más, indica que el paciente no padece rechazo del injerto.

5 Como se usa en el presente documento, el término "muestra" se refiere a una muestra (por ejemplo, sangre, componente sanguíneo (por ejemplo, suero o plasma), orina, saliva, líquido amniótico, líquido cefalorraquídeo, tejido (por ejemplo, placentario o dérmico), líquido pancreático, muestra de
10 vellosidades coriónicas y células) tomada de un sujeto.

 Como se usa en el presente documento, el término "scFv" se refiere a un anticuerpo Fv monocatenario en el que los dominios variables de la cadena pesada y la cadena ligera de
15 un anticuerpo se han unido para formar una cadena. Los fragmentos scFv contienen una única cadena polipeptídica que incluye la región variable de una cadena ligera de anticuerpo (V_L) (por ejemplo, CDR-L1, CDR-L2 y/o CDR-L3) y la región variable de una cadena pesada de anticuerpo (V_H) (por ejemplo,
20 CDR-H1, CDR-H2 y/o CDR-H3) separadas por un enlazador. El enlazador que une las regiones V_L y V_H de un fragmento scFv puede ser un enlazador peptídico compuesto por aminoácidos proteinogénicos. Pueden usarse enlazadores alternativos para aumentar la resistencia del fragmento scFv a la degradación
25 proteolítica (por ejemplo, enlazadores que contengan D-aminoácidos), con el fin de mejorar la solubilidad del fragmento scFv (por ejemplo, enlazadores hidrófilos tales como enlazadores que contienen polietilenglicol o polipéptidos que contienen restos de glicina y serina repetidos), para mejorar
30 la estabilidad biofísica de la molécula (por ejemplo, un enlazador que contiene restos de cisteína que forman enlaces

disulfuro intramoleculares o intermoleculares) o para atenuar la inmunogenicidad del fragmento scFv (por ejemplo, enlazadores que contienen sitios de glicosilación). Un experto habitual en la materia también entenderá que las regiones variables de las moléculas de scFv que se describen en el presente documento pueden modificarse de manera que varíen en cuanto a su secuencia de aminoácidos con respecto a la molécula de anticuerpo de la que derivan. Por ejemplo, pueden realizarse sustituciones de nucleótidos o aminoácidos que conduzcan a sustituciones conservadoras o cambios en los restos de aminoácidos (por ejemplo, en restos de CDR y/o armazón) para conservar o potenciar la capacidad del scFv para unirse al antígeno reconocido por el anticuerpo correspondiente.

Las expresiones "unión específica" o "se une específicamente" en referencia a la interacción de un anticuerpo o fragmento de anticuerpo, con una segunda especie química, significa que la interacción depende de la presencia de una estructura particular (por ejemplo, un determinante antigénico o epítipo) en la especie química; por ejemplo, un anticuerpo reconoce y se une a una estructura proteínica específica en lugar de a proteínas en general. Si un anticuerpo es específico para el epítipo "A", la presencia de una molécula que contiene el epítipo A (o A libre, no marcado), en una reacción que contiene "A" marcado y el anticuerpo, reducirá la cantidad de A marcado unido al anticuerpo. En una realización, un anticuerpo se une específicamente a una diana, por ejemplo, CD2, si el anticuerpo tiene una K_D para la diana de al menos aproximadamente 10^{-4} M, aproximadamente 10^{-5} M, aproximadamente 10^{-6} M, aproximadamente 10^{-7} M, aproximadamente 10^{-8} M, aproximadamente 10^{-9} M, aproximadamente 10^{-10} M, aproximadamente

10^{-11} M, aproximadamente 10^{-12} M o menos (menos significa un número que es inferior a 10^{-12} , por ejemplo, 10^{-13}). En una realización, la expresión "unión específica a CD2" o "se une específicamente a CD2", como se usa en el presente documento, se refiere a un anticuerpo que se une a CD2 y tiene una constante de disociación (K_D) de $1,0 \times 10^{-7}$ M o menos, como se determina mediante resonancia de plasmón superficial. En una realización, K_D se determina de acuerdo con interferometría convencional de biocapa (BLI). Sin embargo, debe entenderse que el anticuerpo puede ser capaz de unirse específicamente a dos o más antígenos que se relacionan en secuencia. Por ejemplo, en una realización, un anticuerpo puede unirse específicamente a ortólogos de CD2 tanto humanos como no humanos (por ejemplo, ratones o primates no humanos).

Como se usan en el presente documento, los términos "sujeto" y "paciente" se refieren a un mamífero, tal como un ser humano, que recibe tratamiento para una enfermedad o afección particular como se describe en el presente documento.

Por ejemplo, un paciente, tal como un paciente humano, puede ser uno que padezca una enfermedad autoinmunitaria que se describe en el presente y al que puede administrarse un anticuerpo anti-CD2 o conjugado anticuerpo-fármaco que se describe en el presente documento para (i) agotar una población de células autoinmunitarias (por ejemplo, una población de linfocitos T y/o linfocitos NK CD2+ autoinmunitarios) y/o (ii) agotar una población de células inmunitarias CD2+ (por ejemplo, linfocitos T y/o linfocitos NK CD2+ que reaccionan de forma cruzada con un antígeno no propio expresado por células madre hematopoyéticas (por ejemplo, un antígeno de MHC no propio), evitando o reduciendo de este modo la probabilidad de rechazo

del injerto antes de la terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas.

Como se usa en el presente documento, la frase

5 "sustancialmente eliminada de la sangre" se refiere a un punto en el tiempo después de la administración de un agente terapéutico (tal como un anticuerpo anti-CD2 o un fragmento de unión a antígeno del mismo) a un paciente cuando la concentración del agente terapéutico en una muestra de sangre

10 aislada del paciente es de manera que el agente terapéutico no es detectable por medios convencionales (por ejemplo, de manera que el agente terapéutico no sea detectable por encima del umbral de ruido del dispositivo o el ensayo utilizado para detectar el agente terapéutico). Puede usarse una diversidad

15 de técnicas conocidas en la técnica para detectar anticuerpos o fragmentos de anticuerpos, tales como ensayos de detección basados en ELISA conocidos en la técnica o que se describen en el presente documento. Los ensayos adicionales que pueden usarse para detectar anticuerpos y fragmentos de anticuerpos

20 incluyen técnicas de inmunoprecipitación y ensayos de inmunotransferencia, entre otros conocidos en la técnica.

Como se usa en el presente documento, la frase "trastorno de células madre" se refiere en general a cualquier enfermedad,

25 trastorno o afección que pueda tratarse o curarse acondicionando los tejidos diana de un sujeto, por ejemplo, mediante la ablación de una población de linfocitos T endógenos en un tejido diana), y/o injertando o trasplantando células madre en los tejidos diana de un sujeto. Por ejemplo, se ha

30 demostrado que los pacientes con diabetes de tipo I se curan mediante un trasplante de células madre hematopoyéticas y

pueden beneficiarse del acondicionamiento de acuerdo con las composiciones y métodos que se describen en el presente documento. Los trastornos adicionales que pueden tratarse usando las composiciones y métodos que se describen en el presente documento incluyen, sin limitación, anemia falciforme, talasemias, anemia de Fanconi, síndrome de Wiskott-Aldrich, IDCG ADA, VIH/SIDA, leucodistrofia metacromática, anemia de Diamond-Blackfan y síndrome de Schwachman-Diamond. El sujeto puede tener o estar afectado por un trastorno hemático hereditario (por ejemplo, anemia de células falciformes) o un trastorno autoinmunitario. Adicionalmente, o como alternativa, el sujeto puede tener o estar afectado por una neoplasia maligna, tal como una neoplasia maligna seleccionada entre el grupo que consiste en cánceres hemáticos (por ejemplo, leucemia, linfoma, mieloma múltiple o síndrome mielodisplásico) y neuroblastoma. En algunas realizaciones, el sujeto tiene o está afectado por un trastorno metabólico. Por ejemplo, el sujeto puede sufrir o estar afectado por un trastorno metabólico seleccionado entre el grupo que consiste en enfermedades de almacenamiento de glucógeno, mucopolisacaridosis, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Hurler, esfingolipidosis, leucodistrofia metacromática o cualquier otra enfermedad o trastorno que pueda beneficiarse de los tratamientos y terapias que se desvelan en el presente documento, incluyendo, sin limitación, inmunodeficiencia combinada grave, síndrome de Wiscott-Aldrich, síndrome de hiperinmunoglobulina M (IgM), enfermedad de Chediak-Higashi, linfocitosis hereditaria, osteopetrosis, osteogénesis imperfecta, enfermedades de almacenamiento, talasemia mayor, enfermedad de células falciformes, esclerosis sistémica, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, artritis

reumatoide juvenil y aquellas enfermedades o trastornos que se describen en "*Bone Marrow Transplantation for Non-Malignant Disease*", *ASH Education Book*, 1: 319-338 (2000), cuya divulgación se incorpora en el presente documento como

5 referencia en su totalidad en lo que se refiere a las patologías que pueden tratarse mediante la administración de terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas.

Como se usa en el presente documento, el término

10 "transfección" se refiere a cualquiera de una amplia diversidad de técnicas habitualmente utilizadas para la introducción de ADN exógeno en una célula hospedadora procariota o eucariota, tales como electroporación, lipofección, precipitación de fosfato de calcio, transfección de DEAE-dextrano y similares.

15 Como se usan en el presente documento, los términos "tratar" o "tratamiento" se refieren al tratamiento terapéutico, en el que el objetivo es prevenir o ralentizar (disminuir) un cambio o trastorno fisiológico no deseado o promover un fenotipo beneficioso en el paciente que se está

20 tratando. Los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero sin limitación, una reducción en la cantidad de células autoinmunitarias presentes en una muestra aislada del paciente, tal como una población de linfocitos T y/o linfocitos NK CD2+ que reaccionan de forma cruzada con un antígeno propio

25 en el caso de tratar un trastorno autoinmunitario directamente, o un antígeno no propio expresado por células madre hematopoyéticas (por ejemplo, un antígeno de MHC no propio) antes del trasplante de células madre hematopoyéticas en el caso de tratar una enfermedad autoinmunitaria mediante la

30 administración de un anticuerpo anti-CD2, un fragmento de unión a antígeno del mismo y un injerto de células madre

hematopoyéticas. Los resultados beneficiosos adicionales incluyen un aumento en el recuento o la concentración relativa de células madre hematopoyéticas en un paciente que necesite un trasplante de células madre hematopoyéticas después de la

5 terapia de condicionamiento y la posterior administración de un injerto de células madre hematopoyéticas exógenas al paciente. Los resultados beneficiosos de la terapia que se describe en el presente documento también pueden incluir un aumento en el recuento celular o la concentración relativa de

10 una o más células de linaje hematopoyético, tales como megacariocitos, trombocitos, plaquetas, eritrocitos, mastocitos, mioblastos, basófilos, neutrófilos, eosinófilos, células de la microglía, granulocitos, monocitos, osteoclastos, células presentadoras de antígeno, macrófagos,

15 células dendríticas, linfocitos citolíticos naturales, linfocitos T o linfocitos B, después de la terapia de acondicionamiento y la posterior terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas.

20 Como se usan en el presente documento, los términos "variante" y "derivado" se usan indistintamente y se refieren a análogos naturales, sintéticos y semisintéticos de un compuesto, péptido, proteína u otra sustancia que se describe en el presente documento. Una variante o derivado de un

25 compuesto, péptido, proteína u otra sustancia que se describe en el presente documento puede conservar o mejorar la actividad biológica del material original.

Como se usa en el presente documento, el término "vector"

30 incluye un vector de ácido nucleico, tal como un plásmido, un vector de ADN, un plásmido, un vector de ARN, virus u otro

replicón adecuado. Los vectores de expresión que se describen en el presente documento pueden contener una secuencia de polinucleótidos, así como, por ejemplo, elementos de secuencia adicionales utilizados para la expresión de proteínas y/o la integración de estas secuencias polinucleotídicas en el genoma de una célula de mamífero. Determinados vectores que pueden usarse para la expresión de anticuerpos y fragmentos de anticuerpos de la invención incluyen plásmidos que contienen secuencias reguladoras, tales como regiones promotoras y potenciadoras, que dirigen la transcripción génica. Otros vectores útiles para la expresión de anticuerpos y fragmentos de anticuerpo contienen secuencias polinucleotídicas que potencian la velocidad de traducción de estos genes o mejoran la estabilidad o la exportación nuclear del ARNm resultado de la transcripción génica. Estos elementos de secuencia pueden incluir, por ejemplo, regiones no traducidas 5' y 3' y un sitio de señal de poliadenilación con el fin de dirigir la transcripción eficiente del gen transportado en el vector de expresión. Los vectores de expresión que se describen en el presente documento también pueden contener un polinucleótido que codifica un marcador para la selección de células que contienen dicho vector. Los ejemplos de un marcador adecuado incluyen genes que codifican resistencia a antibióticos, tales como ampicilina, cloranfenicol, kanamicina y nourseotricina.

25

Como se usa en el presente documento, el término "alquilo" se refiere a un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada que tiene, por ejemplo, de 1 a 20 átomos de carbono en la cadena. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, *terc*-butilo, pentilo, isopentilo, *terc*-pentilo, hexilo, isohexilo y

30

similares.

Como se usa en el presente documento, el término "alquilenos" se refiere a un grupo alquilo divalente de cadena lineal o ramificada. Las posiciones divalentes pueden encontrarse en el mismo o en átomos diferentes en la cadena de alquilo. Los ejemplos de alquilenos incluyen metileno, etileno, propileno, isopropileno y similares.

Como se usa en el presente documento, el término "heteroalquilo" se refiere a un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada que tiene, por ejemplo, de 1 a 20 átomos de carbono en la cadena y que contiene adicionalmente uno o más heteroátomos (por ejemplo, oxígeno, nitrógeno o azufre, entre otros) en la cadena.

Como se usa en el presente documento, el término "heteroalquilenos" se refiere a un grupo heteroalquilo divalente de cadena lineal o ramificada. Las posiciones divalentes pueden encontrarse en el mismo o en átomos diferentes en la cadena de heteroalquilo. Las posiciones divalentes pueden ser uno o más heteroátomos.

Como se usa en el presente documento, el término "alqueniilos" se refiere a un grupo alqueniilo de cadena lineal o ramificada que tiene, por ejemplo, de 2 a 20 átomos de carbono en la cadena. Los ejemplos de grupos alqueniilo incluyen vinilo, propeniilo, isopropeniilo, buteniilo, *terc*-butileniilo, hexeniilo y similares.

Como se usa en el presente documento, el término

"alquenileno" se refiere a un grupo alquenilo divalente de cadena lineal o ramificada. Las posiciones divalentes pueden encontrarse en el mismo o en átomos diferentes en la cadena de alquenilo. Los ejemplos de alquenileno incluyen etenileno, propenileno, isopropenileno, butenileno y similares.

Como se usa en el presente documento, el término "heteroalquenilo" se refiere a un grupo alquenilo de cadena lineal o ramificada que tiene, por ejemplo, de 2 a 20 átomos de carbono en la cadena y que contiene adicionalmente uno o más heteroátomos (por ejemplo, oxígeno, nitrógeno o azufre, entre otros) en la cadena.

Como se usa en el presente documento, el término "heteroalquenileno" se refiere a un grupo heteroalquenilo divalente de cadena lineal o ramificada. Las posiciones divalentes pueden encontrarse en el mismo o en átomos diferentes en la cadena de heteroalquenilo. Las posiciones divalentes pueden ser uno o más heteroátomos.

20

Como se usa en el presente documento, el término "alquinilo" se refiere a un grupo alquinilo de cadena lineal o ramificada que tiene, por ejemplo, de 2 a 20 átomos de carbono en la cadena. Los ejemplos de grupos alquinilo incluyen propargilo, butinilo, pentinilo, hexinilo y similares.

25

Como se usa en el presente documento, el término "alquinileno" se refiere a un grupo alquinilo divalente de cadena lineal o ramificada. Las posiciones divalentes pueden encontrarse en el mismo o en átomos diferentes en la cadena de alquinilo.

30

Como se usa en el presente documento, el término "heteroalquinilo" se refiere a un grupo alquinilo de cadena lineal o ramificada que tiene, por ejemplo, de 2 a 20 átomos de carbono en la cadena y que contiene adicionalmente uno o
5 más heteroátomos (por ejemplo, oxígeno, nitrógeno o azufre, entre otros) en la cadena.

Como se usa en el presente documento, el término "heteroalquinileno" se refiere a un grupo heteroalquinilo
10 divalente de cadena lineal o ramificada. Las posiciones divalentes pueden encontrarse en el mismo o en átomos diferentes en la cadena de heteroalquinilo. Las posiciones divalentes pueden ser uno o más heteroátomos.

15 Como se usa en el presente documento, el término "cicloalquilo" se refiere a una estructura de anillo monocíclico, condensado, unido o espiro policíclico que está saturado y tiene, por ejemplo, de 3 a 12 átomos de carbono en el anillo. Los ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen
20 ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, biciclo[3.1.0]hexano y similares.

Como se usa en el presente documento, el término "cicloalquileno" se refiere a un grupo cicloalquilo divalente.
25 Las posiciones divalentes pueden encontrarse en los mismos o diferentes átomos en la estructura de anillo. Los ejemplos de cicloalquileno incluyen ciclopropileno, ciclobutileno, ciclopentileno, ciclohexileno y similares.

30 Como se usa en el presente documento, el término "heterocicloalquilo" se refiere a una estructura de anillo

monocíclico, condensado, unido o espiro policíclico que está saturado y tiene, por ejemplo, de 3 a 12 átomos de anillo por estructura de anillo seleccionados entre átomos de carbono y heteroátomos seleccionados entre, por ejemplo, nitrógeno, oxígeno y azufre, entre otros. La estructura del anillo puede contener, por ejemplo, uno o más grupos oxo en los miembros de anillo de carbono, nitrógeno o azufre. Los ejemplos de heterocicloalquilos incluyen a modo de ejemplo y no de limitación dihidropiridilo, tetrahidropiridilo (piperidilo), tetrahidrotiofenilo, piperidinilo, 4-piperidonilo, pirrolidinilo, 2-pirrolidonilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiraniilo, bis-tetrahidropiraniilo, tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, decahidroquinolinilo, octahidroisoquinolinilo, piperazinilo, quinuclidinilo y morfolinilo.

Como se usa en el presente documento, el término "heterocicloalquilenilo" se refiere a un grupo heterocicloalquilo divalente. Las posiciones divalentes pueden encontrarse en los mismos o diferentes átomos en la estructura de anillo.

Como se usa en el presente documento, el término "arilo" se refiere a un sistema de anillo aromático monocíclico o multicíclico que contiene, por ejemplo, de 6 a 19 átomos de carbono. Los grupos arilo incluyen, pero sin limitación, fenilo, fluorenilo, naftilo y similares. Las posiciones divalentes pueden ser uno o más heteroátomos.

Como se usa en el presente documento, el término "arileno" se refiere a un grupo arilo divalente. Las posiciones

divalentes pueden encontrarse en los mismos o diferentes átomos.

Como se usa en el presente documento, el término "heteroarilo" se refiere a un grupo heteroaromático monocíclico o un grupo heteroaromático de anillo condensado bicíclico o tricíclico en el que uno o más átomos del anillo es un heteroátomo, por ejemplo, nitrógeno, oxígeno o azufre. Los grupos heteroarilo incluyen piridilo, pirrolilo, furilo, tienilo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, pirazolilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,2,5-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, 1,3,4-triazinilo, 1,2,3-triazinilo, benzofurilo, [2,3-dihidro]benzofurilo, isobenzofurilo, benzotienilo, benzotriazolilo, isobenzotienilo, indolilo, isoindolilo, 3H-indolilo, bencimidazolilo, imidazo[1,2-a]piridilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, quinolizininilo, quinazolinilo, ftalazinilo, quinoxalinilo, cinolinilo, naftiridinilo, pirido[3,4-b]piridilo, pirido[3,2-b]piridilo, pirido[4,3-b]piridilo, quinolilo, isoquinolilo, tetrazolilo, 5,6,7,8-tetrahidroquinolilo, 5,6,7,8-tetrahidroisoquinolilo, purinilo, pteridinilo, carbazolilo, xantenilo, benzoquinolilo y similares.

Como se usa en el presente documento, el término "heteroarileno" se refiere a un grupo heteroarilo divalente. Las posiciones divalentes pueden encontrarse en los mismos o diferentes átomos. Las posiciones divalentes pueden ser uno o más heteroátomos.

30

A menos que se restrinja por la definición del

sustituyente individual, los restos químicos anteriores, tales como los grupos "alquilo", "alquilenilo", "heteroalquilo", "heteroalquilenilo", "alquenilo", "alquenilenilo", "heteroalquenilo", "heteroalquenilenilo", "alquinilo", "alquinilenilo", "heteroalquinilo", "heteroalquinilenilo", "cicloalquilo", "cicloalquilenilo", "heterocicloalquilo", "heterocicloalquilenilo", "arilo", "arilenilo", "heteroarilo" y "heteroarilenilo" pueden estar opcionalmente sustituidos con, por ejemplo, de 1 a 5 sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, alquilarilo, alquilheteroarilo, alquilocicloalquilo, alquilheterocicloalquilo, amino, amonio, acilo, aciloxi, acilamino, aminocarbonilo, alcoxicarbonilo, ureido, carbamato, arilo, heteroarilo, sulfinilo, sulfonilo, alcoxi, sulfanilo, halógeno, carboxi, trihalometilo, ciano, hidroxilo, mercapto, nitro y similares. Los sustituyentes típicos incluyen, pero sin limitación, -X, -R, -OH, -OR, -SH, -SR, NH_2 , -NHR, -N(R)₂, -N⁺(R)₃, -CX₃, -CN, -OCN, -SCN, -NCO, -NCS, -NO, -NO₂, -N₃, -NC(=O)H, -NC(=O)R, -C(=O)H, -C(=O)R, -C(=O)NH₂, -C(=O)N(R)₂, -SO₃⁻, -SO₃H, -S(=O)₂R, -OS(=O)₂OR, -S(=O)₂NH₂, -S(=O)₂N(R)₂, -S(=O)R, -OP(=O)(OH)₂, -OP(=O)(OR)₂, -P(=O)(OR)₂, -PO₃, -PO₃H₂, -C(=O)X, -C(=S)R, -CO₂H, -CO₂R, -CO₂⁻, -C(=S)OR, -C(=O)SR, -C(=S)SR, -C(=O)NH₂, -C(=O)N(R)₂, -C(=S)NH₂, -C(=S)N(R)₂, -C(=NH)NH₂ y -C(=NR)N(R)₂; en donde cada X se selecciona independientemente para cada ocasión entre F, Cl, Br e I; y cada R se selecciona independientemente para cada ocasión entre alquilo, arilo, heterocicloalquilo o heteroarilo, grupo protector y resto profármaco. Siempre que un grupo se describa como "opcionalmente sustituido", ese grupo puede sustituirse con uno o más de los sustituyentes anteriores,

independientemente para cada ocasión. La sustitución puede incluir situaciones en las que los sustituyentes vecinos hayan sufrido un cierre de anillo, tal como el cierre de anillo de sustituyentes funcionales vecinos, para formar, por ejemplo, lactamas, lactonas, anhídridos cíclicos, acetales, hemiacetales, tioacetales, aminales y hemiaminales, formados por cierre de anillo, por ejemplo, para proporcionar un grupo protector.

Debe comprenderse que determinadas convenciones de denominación de radicales pueden incluir un mono-radical o un di-radical, dependiendo del contexto. Por ejemplo, cuando un sustituyente requiere dos puntos de unión al resto de la molécula, se entiende que el sustituyente es un di-radical. Por ejemplo, un sustituyente identificado como alquilo que requiere dos puntos de unión incluye di-radicales tales como $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH(CH_3)CH_2-$ y similares. Otras convenciones de denominación de radicales indican claramente que el radical es un di-radical tal como "alquilenos", "alquenilenos", "arilenos", "heterocicloalquilenos" y similares.

Siempre que un sustituyente se represente como un di-radical (es decir, que tenga dos puntos de unión al resto de la molécula), debe entenderse que el sustituyente puede unirse en cualquier configuración direccional a menos que se indique otra cosa.

Anticuerpos anti-CD2

La presente invención se basa en parte en el descubrimiento de que los anticuerpos anti-CD2 o, fragmentos de unión a antígenos de los mismos, pueden usarse para tratar

cánceres y enfermedades autoinmunitarias directamente, por ejemplo, debido a la capacidad de tales agentes para destruir células cancerosas CD2+ (por ejemplo, células leucémicas CD2+) y células autoinmunitarias CD2+ (por ejemplo, linfocitos T y/o linfocitos NK autoinmunitarios CD2+). En particular, un anticuerpo anti-CD2 que se describe en el presente documento se conjuga con una citotoxina a través de un enlazador. Por tanto, cuando se describen anticuerpos anti-CD2, también se contemplan conjugados de los mismos a menos que se indique otra cosa.

La invención se basa adicionalmente en parte en el descubrimiento de que los anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, capaces de unirse a CD2 pueden usarse como agentes terapéuticos para promover el injerto de células madre hematopoyéticas trasplantadas en un paciente que necesite terapia de trasplante evitando o reduciendo la probabilidad de rechazo de injerto mediado por células inmunitarias. Por ejemplo, los anticuerpos anti-CD2 y los fragmentos de unión a antígeno pueden unirse al CD2 de la superficie celular expresado por las células inmunitarias, tales como los linfocitos T o los linfocitos NK que reaccionan de forma cruzada con, y generan una respuesta inmunitaria contra, antígenos de células madre hematopoyéticas no propios, tales como uno o más antígenos de MHC no propios expresados por las células madre hematopoyéticas. La unión de dichos anticuerpos, y fragmentos de unión a antígeno, a células inmunitarias CD2+ específicas de células madre hematopoyéticas puede inducir la muerte de la célula inmunitaria unida, por ejemplo, por citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos o por la acción de un agente citotóxico que se conjuga con el

anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo. El agotamiento de una población de células inmunitarias CD2+ que reaccionan de forma cruzada con células madre hematopoyéticas no propias puede facilitar el injerto de trasplantes de células madre hematopoyéticas en un paciente que lo necesite atenuando la capacidad del sistema inmunitario del receptor para generar una respuesta inmunitaria contra el injerto entrante. De esta manera, puede tratarse un paciente que padezca un trastorno de células madre, cáncer, enfermedad autoinmunitaria u otro trastorno hemático que se describe en el presente documento, ya que puede proporcionarse un trasplante de células madre hematopoyéticas a un sujeto con el fin de repoblar un linaje de células que es defectuoso y/o deficiente en el sujeto. El sujeto puede tener una deficiencia de una población de células debido, por ejemplo, a la quimioterapia que se ha administrado al sujeto con el objetivo de erradicar las células cancerosas pero que, en el proceso, también ha agotado las células hematopoyéticas sanas.

Por ejemplo, la invención proporciona de este modo composiciones y métodos para promover el injerto de células madre hematopoyéticas trasplantadas mediante la administración de un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, capaz de unirse a un antígeno expresado por linfocitos T. Esta administración puede provocar el agotamiento selectivo de una población de linfocitos T endógenos, tales como los linfocitos T CD4+ y CD8+. Este agotamiento selectivo de linfocitos T puede, a su vez, prevenir el rechazo del injerto después del trasplante de un injerto de células madre hematopoyéticas exógenas (por ejemplo, autólogas, alogénas o singénicas). Por ejemplo, el agotamiento selectivo de linfocitos T CD4+ y/o CD8+

usando un anticuerpo anti-CD2, un fragmento de unión a antígeno, un conjugado anticuerpo-fármaco o un conjugado anticuerpo-fármaco como se describe en el presente documento puede atenuar una respuesta inmunitaria mediada por linfocitos

5 T que puede producirse contra un injerto de células madre hematopoyéticas trasplantadas. La invención se basa en parte en el descubrimiento de que los anticuerpos, y los fragmentos de unión a antígeno de los mismos, capaces de unirse a CD2 pueden administrarse a un paciente que necesite terapia de

10 trasplante de células madre hematopoyéticas con el fin de promover la supervivencia y el potencial de injerto de las células madre hematopoyéticas trasplantadas.

El injerto de trasplantes de células madre hematopoyéticas

15 debido a la administración de anticuerpos anti-CD2, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, puede manifestarse en una diversidad de medidas empíricas. Por ejemplo, el injerto de células madre hematopoyéticas trasplantadas puede evaluarse mediante la evaluación de la

20 cantidad de unidades de repoblación competitivas (URC, por sus siglas en inglés) presentes dentro de la médula ósea de un paciente después de la administración de un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, capaz de unirse a CD2 y la administración posterior de un trasplante de células madre

25 hematopoyéticas. Adicionalmente, puede observarse el injerto de un trasplante de células madre hematopoyéticas mediante la incorporación de un gen indicador, tal como una enzima que cataliza una reacción química que produce un producto fluorescente, cromóforo o luminiscente, en un vector con el

30 que se han transfectado las células madre hematopoyéticas del donante y, posteriormente, controlando la señal

correspondiente en un tejido en el que se han alojado las células madre hematopoyéticas, tal como la médula ósea. También puede observarse el injerto de células madre hematopoyéticas mediante la evaluación de la cantidad y la supervivencia de las células madre y progenitoras hematopoyéticas, por ejemplo, como se determina mediante métodos de análisis de clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS, por sus siglas en inglés) conocidos en la técnica. El injerto también puede determinarse midiendo los recuentos de glóbulos blancos en sangre periférica durante un periodo posterior al trasplante y/o midiendo la recuperación de células de médula por células donantes en una muestra de aspirado de médula ósea.

Las secciones a continuación proporcionan una descripción de anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que pueden administrarse a un paciente que necesite terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas con el fin de promover el injerto de injertos de células madre hematopoyéticas, así como métodos de administración de dicha terapia a un paciente antes del trasplante de células madre hematopoyéticas.

Anticuerpos de ejemplo

Las composiciones y los métodos que se describen en el presente documento incluyen un anticuerpo, o fragmento del mismo, que se une específicamente al CD2 humano. El CD2 humano también se denomina antígeno de superficie de linfocitos T T11/leu-5, T11, antígeno CD2 (p50) y receptor de glóbulos rojos de oveja (SRBC). CD2 se expresa en linfocitos T. Se han identificado dos isoformas de CD2 humano. La isoforma 1 contiene 351 aminoácidos y se describe en Seed, B. et al.

(1987) 84: 3365-69 (véase también Sewell et al. (1986) 83: 8718-22) y a continuación (secuencia de referencia del NCBI: NP_001758.2):

```
msfpckfvas fllifnvssk gavskeitna letwgalgqd inldipsfqm sddiddikwe
ktsdkkkiaq frkeketfke kdtlyklfkng tlkikhkkt d qdiykvsiy dtkgknvlek
ifdlkiqerv skpkiswtci nttltcevmn gtdpelnllyq dgkhlklsqr vithkwttsl
sakfkctagn kvskeessvep vscpekgl di yliigicggg sllmvfvall vfyitkrkkq
rsrrndeele trahrvatee rgrkphqipa stpqnatsq hpppppghrs qapshrprrp
ghrvqhqpqk rppapsgtqv hqqkgpplpr prvpkpphg aaenslspss n (SEQ ID NO: 13)
```

Una segunda isoforma de CD2 es de 377 aminoácidos y se identifica en el presente documento como secuencia de referencia del NCBI: NP_001315538.1.

Se ha mostrado que los linfocitos T y los linfocitos NK expresan CD2, que es una molécula de adhesión celular y un marcador específico para dichos linfocitos. Por ejemplo, CD2 interactúa con otras moléculas de adhesión, tales como el antígeno 3 asociado a la función linfocitaria (LFA-3/CD58), para potenciar la activación de los linfocitos T. Los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, capaces de unirse a CD2 pueden suprimir la activación de linfocitos T y las respuestas inmunitarias mediadas por linfocitos T contra injertos de células madre hematopoyéticas, por ejemplo, inhibiendo la interacción entre CD2 y LFA-3. Los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen a este antígeno de superficie celular pueden identificarse usando técnicas conocidas en este campo y que se describen en el presente documento, incluyendo inmunización, técnicas de modelado por ordenador y métodos de selección *in vitro*, tales como las plataformas de presentación en fagos y de presentación basada en células que se describen a continuación.

La presente invención abarca anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen específicamente a un polipéptido CD2, por ejemplo, un polipéptido CD2 humano y sus usos. En una realización de ejemplo, el anticuerpo, o
5 fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a un polipéptido CD2 comprende una región variable de la cadena pesada y una región variable de la cadena ligera.

10 En una realización, la región variable de la cadena pesada comprende una o más regiones determinantes de complementariedad (CDR). En una realización, la región variable de la cadena pesada comprende una CDR1 de VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 1. En una realización, la región
15 variable de la cadena pesada comprende una CDR2 de VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 2. En una realización, la región variable de la cadena pesada comprende una CDR3 de VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3. En una realización, la región
20 variable de la cadena pesada comprende una o más CDR de VH seleccionadas del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 y SEQ ID NO: 3. En una realización, la región variable de la cadena pesada comprende dos o más CDR de VH seleccionadas del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 y SEQ
25 ID NO: 3. En una realización, la región variable de la cadena pesada comprende una CDR1 de VH que comprende la SEQ ID NO: 1, una CDR2 de VH que comprende la SEQ ID NO: 2 y una CDR3 de VH que comprende la SEQ ID NO: 3.

30 En una realización, la región variable de la cadena ligera comprende una o más regiones determinantes de complementariedad

(CDR). En una realización, la región variable de la cadena ligera comprende una CDR1 de VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4. En una realización, la región variable de la cadena ligera comprende una CDR2 de VL que
5 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5. En una realización, la región variable de la cadena ligera comprende una CDR3 de VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6. En una realización, la región variable de la cadena ligera comprende una o más CDR de VL
10 seleccionadas del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 6. En una realización, la región variable de la cadena ligera comprende dos o más CDR de VL seleccionadas del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 6. En una realización, la región variable de la cadena
15 ligera comprende una CDR1 de VL que comprende la SEQ ID NO: 4, una CDR2 de VL que comprende la SEQ ID NO: 5 y una CDR3 de VL que comprende la SEQ ID NO: 6.

En una realización ejemplar, el anticuerpo, o fragmento
20 de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una CDR1 de VH que comprende la SEQ ID NO: 1, una CDR2 de VH que comprende la SEQ ID NO: 2 y una CDR3 de VH que comprende la SEQ ID NO: 3, y una región variable de la cadena ligera que comprende una CDR1 de VL que
25 comprende la SEQ ID NO: 4, una CDR2 de VL que comprende la SEQ ID NO: 5 y una CDR3 de VL que comprende la SEQ ID NO: 6.

En determinadas realizaciones, una o más de las CDR (es decir, una o más CDR de la cadena pesada que tienen las SEQ ID
30 NO: 1-3 y/o una o más CDR de la cadena ligera que tienen las SEQ ID NO: 4-6) pueden comprender una sustitución conservadora

de aminoácidos (o sustituciones de 2, 3, 4 o 5 aminoácidos) conservando al mismo tiempo la especificidad de CD2 del anticuerpo (es decir, especificidad similar a un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende CDR de la cadena pesada de las SEQ ID NO: 1 a 3 y CDR de la cadena ligera de las SEQ ID NO: 4 a 6).

En una realización, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos que se expone en la SEQ ID NO: 7. En otra realización, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 7, por ejemplo, al menos un 95 %, un 96 %, un 97 %, un 98 %, un 99 % o un 100 % de identidad con la SEQ ID NO: 7. En determinadas realizaciones, un anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (HC) modificada que comprende un dominio variable de la HC que comprende la SEQ ID NO: 7, o una variante de la SEQ ID NO: 7, variante (i) que difiere de la SEQ ID NO: 7 en 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones, adiciones o supresiones de aminoácidos; (ii) difiere de la SEQ ID NO: 7 en como máximo 5, 4, 3, 2 o 1 sustituciones, adiciones o supresiones de aminoácidos; (iii) difiere de la SEQ ID NO: 7 en 1-5, 1-3, 1-2, 2-5 o 3-5 sustituciones, adiciones o supresiones de aminoácidos y/o (iv) comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 75 %, un 80 %, un 85 %, un 90 %, un 95 %, un 96 %, un 97 %, un 98 % o un 99 % idéntica a la SEQ ID NO: 7, en donde en cualquiera de (i)-(iv), una sustitución de aminoácido puede ser una sustitución de aminoácido conservadora o una sustitución de aminoácido no

conservadora; y en donde la región variable de la cadena pesada modificada puede tener una actividad biológica potenciada con respecto a la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 7, conservando al mismo tiempo la especificidad de unión a CD2 del anticuerpo, es decir, tiene una especificidad de unión similar a un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende la SEQ ID NO: 7. En una realización, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena pesada que difiere de la secuencia de aminoácidos que se expone en la SEQ ID NO: 7 en uno, dos, tres o cuatro aminoácidos. Por ejemplo, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena pesada que difiere de la secuencia de aminoácidos que se expone en la SEQ ID NO: 7 en una, dos, tres o cuatro de las posiciones 12, 13, 28 y/o 48. En una realización, la región variable de la cadena pesada difiere de la secuencia de aminoácidos establecida en la SEQ ID NO: 7 en las posiciones 12, 13, 28 y 48. En una realización, la región variable de la cadena pesada comprende una, dos, tres o cuatro de las siguientes sustituciones con respecto a la secuencia expuesta en la SEQ ID NO: 7: K12Q; K13R; T28I; y M48V. En una realización, la región variable de la cadena pesada comprende las sustituciones K12Q; K13R; T28I; y M48V con respecto a la SEQ ID NO: 7.

25

En una realización, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos que se expone en la SEQ ID NO: 8. En otra realización, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena ligera que comprende una secuencia de

30

aminoácidos que tiene al menos un 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 8, por ejemplo, al menos un 95 %, un 96 %, un 97 %, un 98 %, un 99 % o un 100 % de identidad con la SEQ ID NO: 8. En determinadas realizaciones, un anticuerpo comprende una región variable de la cadena ligera (LC) modificada que comprende un dominio variable de la LC que comprende la SEQ ID NO: 8, o una variante de la SEQ ID NO: 8, variante (i) que difiere de la SEQ ID NO: 8 en 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones, adiciones o supresiones de aminoácidos; (ii) difiere de la SEQ ID NO: 8 en como máximo 5, 4, 3, 2 o 1 sustituciones, adiciones o supresiones de aminoácidos; (iii) difiere de la SEQ ID NO: 8 en 1-5, 1-3, 1-2, 2-5 o 3-5 sustituciones, adiciones o supresiones de aminoácidos y/o (iv) comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 75 %, un 80 %, un 85 %, un 90 %, un 95 %, un 96 %, un 97 %, un 98 % o un 99 % idéntica a la SEQ ID NO: 8, en donde en cualquiera de (i)-(iv), una sustitución de aminoácido puede ser una sustitución de aminoácido conservadora o una sustitución de aminoácido no conservadora; y en donde la región variable de la cadena ligera modificada puede tener una actividad biológica mejorada en relación con la región variable de la cadena ligera de la SEQ ID NO: 8, conservando al mismo tiempo la especificidad de unión a CD2 del anticuerpo, es decir, tiene una especificidad de unión similar a un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende la SEQ ID NO: 8.

En una realización de ejemplo, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 7, por ejemplo, al menos aproximadamente un 95 %, aproximadamente

un 96 %, aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 %, aproximadamente un 99 % o un 100 % de identidad con la SEQ ID NO: 7, y una región variable de la cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente un 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 8, por ejemplo, al menos aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 96 %, aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 %, aproximadamente un 99 % o un 100 % de identidad con la SEQ ID NO: 8. En una realización, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 7 y una región variable de la cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 8. En una realización, el anticuerpo es un anticuerpo Ab1 que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 7 y una región variable de la cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 8.

En una realización, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos que se expone en la SEQ ID NO: 9. En otra realización, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 9, por ejemplo, al menos aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 96 %, aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 %, aproximadamente un 99 % o un 100 % de identidad con la SEQ ID NO: 9. En una realización ejemplar, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 95 % de

- identidad con la SEQ ID NO: 9, por ejemplo, al menos aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 96 %, aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 %, aproximadamente un 99 % o un 100 % de identidad con la SEQ ID
- 5 NO: 9, y una región variable de la cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente un 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 10, por ejemplo, al menos aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 96 %, aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 %,
- 10 aproximadamente un 99 % o un 100 % de identidad con la SEQ ID NO: 10. En una realización, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 9 y una región variable de la cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 10.
- 15 En una realización, el anticuerpo es un anticuerpo Ab1a que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 9 y una región variable de la cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 10
- 20 En una realización, la región variable de la cadena pesada comprende una o más regiones determinantes de complementariedad (CDR). En una realización, la región variable de la cadena pesada comprende una CDR1 de VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14. En una realización, la región
- 25 variable de la cadena pesada comprende una CDR2 de VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15. En una realización, la región variable de la cadena pesada comprende una CDR3 de VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16. En una realización, la región
- 30 variable de la cadena pesada comprende una o más CDR de VH seleccionadas del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 14, SEQ

ID NO: 15 y SEQ ID NO: 16. En una realización, la región variable de la cadena pesada comprende dos o más CDR de VH seleccionadas del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 16. En una realización, la región

5 variable de la cadena pesada comprende una CDR1 de VH que comprende la SEQ ID NO: 14, una CDR2 de VH que comprende la SEQ ID NO: 15 y una CDR3 de VH que comprende la SEQ ID NO: 16.

En una realización, la región variable de la cadena pesada

10 comprende una o más regiones determinantes de complementariedad (CDR). En una realización, la región variable de la cadena pesada comprende una CDR1 de VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14. En una realización, la región variable de la cadena pesada comprende una CDR2 de VH que

15 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15. En una realización, la región variable de la cadena pesada comprende una CDR3 de VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17. En una realización, la región variable de la cadena pesada comprende una o más CDR de VH

20 seleccionadas del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 17. En una realización, la región variable de la cadena pesada comprende dos o más CDR de VH seleccionadas del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 17. En una realización, la región

25 variable de la cadena pesada comprende una CDR1 de VH que comprende la SEQ ID NO: 14, una CDR2 de VH que comprende la SEQ ID NO: 15 y una CDR3 de VH que comprende la SEQ ID NO: 17.

En una realización, la región variable de la cadena ligera

30 comprende una o más regiones determinantes de complementariedad (CDR). En una realización, la región variable de la cadena

ligera comprende una CDR1 de VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18. En una realización, la región variable de la cadena ligera comprende una CDR2 de VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19. En una realización, la región variable de la cadena ligera comprende una CDR3 de VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20. En una realización, la región variable de la cadena ligera comprende una o más CDR de VL seleccionadas del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 y SEQ ID NO: 20. En una realización, la región variable de la cadena ligera comprende dos o más CDR de VL seleccionadas del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 19 y SEQ ID NO: 20. En una realización, la región variable de la cadena ligera comprende una CDR1 de VL que comprende la SEQ ID NO: 18, una CDR2 de VL que comprende la SEQ ID NO: 19 y una CDR3 de VL que comprende la SEQ ID NO: 20.

En una realización ejemplar, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una CDR1 de VH que comprende la SEQ ID NO: 14, una CDR2 de VH que comprende la SEQ ID NO: 15 y una CDR3 de VH que comprende la SEQ ID NO: 16, y una región variable de la cadena ligera que comprende una CDR1 de VL que comprende la SEQ ID NO: 18, una CDR2 de VL que comprende la SEQ ID NO: 19 y una CDR3 de VL que comprende la SEQ ID NO: 20.

En una realización ejemplar, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una CDR1 de VH que comprende la SEQ ID NO: 14, una CDR2 de VH que comprende la SEQ ID NO:

15 y una CDR3 de VH que comprende la SEQ ID NO: 17, y una
 región variable de la cadena ligera que comprende una CDR1 de
 VL que comprende la SEQ ID NO: 18, una CDR2 de VL que comprende
 la SEQ ID NO: 19 y una CDR3 de VL que comprende la SEQ ID NO:
 5 20.

En determinadas realizaciones, una o más de las CDR (es
 decir, una o más CDR de la cadena pesada que tienen las SEQ ID
 NO: 14-17 y/o una o más CDR de la cadena ligera que tienen las
 10 SEQ ID NO: 18-19) pueden comprender una sustitución
 conservadora de aminoácidos (o sustituciones de 2, 3, 4 o 5
 aminoácidos) conservando al mismo tiempo la especificidad de
 CD2 del anticuerpo (es decir, especificidad similar a un
 anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que
 15 comprende CDR de la cadena pesada de las SEQ ID NO: 14 a 16 y
 CDR de la cadena ligera de las SEQ ID NO: 18 a 20; o que
 comprende CDR de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 14, 15, 17
 y CDR de la cadena ligera de las SEQ ID NO: 18 a 20).

20 En una realización, el anticuerpo, o fragmento de unión a
 antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena
 pesada que comprende la secuencia de aminoácidos que se expone
 en la SEQ ID NO: 21. En otra realización, el anticuerpo, o
 fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región
 25 variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de
 aminoácidos que tiene al menos aproximadamente un 95 % de
 identidad con la SEQ ID NO: 21, por ejemplo, al menos
 aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 96 %,
 aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 %,
 30 aproximadamente un 99 % o un 100 % de identidad con la SEQ ID
 NO: 21. En determinadas realizaciones, un anticuerpo comprende

una región variable de la cadena pesada (HC) modificada que comprende un dominio variable de la HC que comprende la SEQ ID NO: 21, o una variante de la SEQ ID NO: 21, variante (i) que difiere de la SEQ ID NO: 21 en 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones, 5 adiciones o supresiones de aminoácidos; (ii) difiere de la SEQ ID NO: 21 en como máximo 5, 4, 3, 2 o 1 sustituciones, adiciones o supresiones de aminoácidos; (iii) difiere de la SEQ ID NO: 21 en 1-5, 1-3, 1-2, 2-5 o 3-5 sustituciones, adiciones o supresiones de aminoácidos y/o (iv) comprende una secuencia de 10 aminoácidos que es al menos aproximadamente un 75 %, aproximadamente un 80 %, aproximadamente un 85 %, aproximadamente un 90 %, aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 96 %, aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 % o aproximadamente un 99 % idéntica a 15 la SEQ ID NO: 21, en donde en cualquiera de (i)-(iv), una sustitución de aminoácido puede ser una sustitución de aminoácido conservadora o una sustitución de aminoácido no conservadora; y en donde la región variable de la cadena pesada modificada puede tener una actividad biológica potenciada con 20 respecto a la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 21, conservando al mismo tiempo la especificidad de unión a CD2 del anticuerpo, es decir, tiene una especificidad de unión similar a un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende la SEQ ID NO: 21.

25

En una realización, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos que se expone en la SEQ ID NO: 22. En otra realización, el anticuerpo, o 30 fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de

aminoácidos que tiene al menos aproximadamente un 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 22, por ejemplo, al menos aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 96 %, aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 %, aproximadamente un 99 % o un 100 % de identidad con la SEQ ID NO: 22. En determinadas realizaciones, un anticuerpo comprende una región variable de la cadena pesada (HC) modificada que comprende un dominio variable de la HC que comprende la SEQ ID NO: 21, o una variante de la SEQ ID NO: 22, variante (i) que difiere de la SEQ ID NO: 22 en 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones, adiciones o supresiones de aminoácidos; (ii) difiere de la SEQ ID NO: 22 en como máximo 5, 4, 3, 2 o 1 sustituciones, adiciones o supresiones de aminoácidos; (iii) difiere de la SEQ ID NO: 22 en 1-5, 1-3, 1-2, 2-5 o 3-5 sustituciones, adiciones o supresiones de aminoácidos y/o (iv) comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 75 %, aproximadamente un 80 %, aproximadamente un 85 %, aproximadamente un 90 %, aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 96 %, aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 % o aproximadamente un 99 % idéntica a la SEQ ID NO: 22, en donde en cualquiera de (i)-(iv), una sustitución de aminoácido puede ser una sustitución de aminoácido conservadora o una sustitución de aminoácido no conservadora; y en donde la región variable de la cadena pesada modificada puede tener una actividad biológica potenciada con respecto a la región variable de la cadena pesada de la SEQ ID NO: 22, conservando al mismo tiempo la especificidad de unión a CD2 del anticuerpo, es decir, tiene una especificidad de unión similar a un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende la SEQ ID NO: 22.

En una realización, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos que se expone en la SEQ ID NO: 23. En otra realización, el anticuerpo, o

5 fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente un 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 23, por ejemplo, al menos aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 96 %,

10 aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 %, aproximadamente un 99 % o un 100 % de identidad con la SEQ ID NO: 23. En determinadas realizaciones, un anticuerpo comprende una región variable de la cadena ligera (LC) modificada que comprende un dominio variable de la LC que comprende la SEQ ID

15 NO: 23, o una variante de la SEQ ID NO: 23, variante (i) que difiere de la SEQ ID NO: 23 en 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones, adiciones o supresiones de aminoácidos; (ii) difiere de la SEQ ID NO: 23 en como máximo 5, 4, 3, 2 o 1 sustituciones, adiciones o supresiones de aminoácidos; (iii) difiere de la SEQ ID NO:

20 23 en 1-5, 1-3, 1-2, 2-5 o 3-5 sustituciones, adiciones o supresiones de aminoácidos y/o (iv) comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente un 75 %, aproximadamente un 80 %, aproximadamente un 85 %, aproximadamente un 90 %, aproximadamente un 95 %,

25 aproximadamente un 96 %, aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 % o aproximadamente un 99 % idéntica a la SEQ ID NO: 23, en donde en cualquiera de (i)-(iv), una sustitución de aminoácido puede ser una sustitución de aminoácido conservadora o una sustitución de aminoácido no

30 conservadora; y en donde la región variable de la cadena ligera modificada puede tener una actividad biológica mejorada en

relación con la región variable de la cadena ligera de la SEQ ID NO: 23, conservando al mismo tiempo la especificidad de unión a CD2 del anticuerpo, es decir, tiene una especificidad de unión similar a un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende la SEQ ID NO: 23.

En una realización de ejemplo, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 21, por ejemplo, al menos aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 96 %, aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 % o aproximadamente un 99 %, o un 100 % de identidad con la SEQ ID NO: 21, y una región variable de la cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente un 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 23, por ejemplo, al menos aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 96 %, aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 %, aproximadamente un 99 % o un 100 % de identidad con la SEQ ID NO: 23. En una realización, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 21 y una región variable de la cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 23.

En una realización de ejemplo, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente un 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 22, por ejemplo, al menos aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 96 %, aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 % o aproximadamente un 99 %, o 100 % de

identidad con la SEQ ID NO: 22, y una región variable de la cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente un 95 % de identidad con la SEQ ID NO: 23, por ejemplo, al menos aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 96 %, aproximadamente un 97 %, aproximadamente un 98 %, aproximadamente un 99 % o un 100 % de identidad con la SEQ ID NO: 23. En una realización, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de la cadena pesada que comprende la SEQ ID NO: 22 y una región variable de la cadena ligera que comprende la SEQ ID NO: 23.

Los anticuerpos anti-CD2 que pueden usarse junto con las composiciones y métodos que se describen en el presente documento incluyen aquellos que tienen una o más, o todas, de las siguientes CDR:

- a. una CDR-H1 que tiene la secuencia de aminoácidos EYYMY (SEQ ID NO: 1);
- b. una CDR-H2 que tiene la secuencia de aminoácidos RIDPEDGSIDYVEKFKK (SEQ ID NO: 2);
- c. una CDR-H3 que tiene la secuencia de aminoácidos GKFNYRFAY (SEQ ID NO: 3);
- d. una CDR-L1 que tiene la secuencia de aminoácidos RSSQSLHSSGNTYLN (SEQ ID NO: 4);
- e. una CDR-L2 que tiene la secuencia de aminoácidos LVSKLES (SEQ ID NO: 5); y
- f. una CDR-L3 que tiene la secuencia de aminoácidos MQFTHYPYT (SEQ ID NO: 6).

Se describen anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que contienen las secuencias de CDR anteriores,

por ejemplo, en la Patente de los EE.UU. N.º 6.849.258, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en lo que se refiere a anticuerpos anti-CD2 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos.

5

Los anticuerpos y fragmentos de los mismos descritos en las Patentes de los EE.UU. N.º 5.730.979; 5.817.311; 5.951.983; y 7.592.006; tales como LO-CD2a, BTI-322 y anticuerpos producidos por la línea celular de hibridoma depositada como
10 depósito de la ATCC N.º HB 11423 (por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que contienen una o más, o todas, de las secuencias de CDR del anticuerpo LO-CD2a aislado de la línea celular de hibridoma depositado como depósito de la ATCC N.º HB 11423) se pueden usar junto con las
15 composiciones y los métodos desvelados en el presente documento. Los anticuerpos de ejemplo que pueden usarse junto con las composiciones y métodos descritos en el presente documento incluyen anticuerpos humanizados que contienen una o más, o todas, de las secuencias de CDR de un anticuerpo aislado
20 de la línea celular de hibridoma depositada como depósito de la ATCC N.º HB 11423, tal como MEDI-507. MEDI-507 es un anticuerpo monoclonal anti-CD2 humanizado que contiene las secuencias de CDR-H y CDR-L de (a) a (f) anteriores y se describe en Branco et al., Transplantation 68: 1588-1596
25 (1999). MEDI-507 se describe adicionalmente en los documentos WO99/03502A1 y WO1994/020619A1; Patentes de los EE. UU. N.º US7.592.006, US6.849.258, US5.951.983, US5.817.311 y US5.730.979; y las Publicaciones de Patente de los EE. UU. N.º US2011/0280868, US2004/0265315 y 2011/0091453, cuyas
30 descripciones se incorporan en el presente documento como referencia en lo que se refiere a anticuerpos anti-CD2 y

fragmentos de unión a antígeno de los mismos, tales como el anticuerpo anti-CD2 MEDI-507. En una realización, el anticuerpo anti-CD2 es Siplizumab o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

5

Las divulgaciones del artículo de revista científica y las patentes de los EE. UU. anteriores se incorporan en el presente documento como referencia en lo que se refiere a anticuerpos anti-CD2 y fragmentos de unión a antígeno de los

10 mismos.

Otros anticuerpos anti-CD2 que se pueden usar junto con las composiciones y los métodos descritos en el presente documento incluyen, por ejemplo, anticuerpos anti-CD2 que se

15 describen en las patentes de los EE. UU. N.º 6.541.611 y 7.250.167, cuyas descripciones se incorporan en el presente documento como referencia en lo que se refiere a anticuerpos anti-CD2 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, tales como el anticuerpo anti-CD2 LO-CD2b y anticuerpos producidos

20 por la línea celular de hibridoma depositada como depósito de la ATCC N.º PTA-802. Los anticuerpos de ejemplo que pueden usarse junto con las composiciones y métodos descritos en el presente documento incluyen anticuerpos humanizados que contienen una o más, o todas, de las secuencias de CDR de un

25 anticuerpo aislado de la línea celular de hibridoma depositada como depósito de la ATCC N.º PTA-802.

Otros anticuerpos anti-CD2 que se pueden usar junto con las composiciones y los métodos descritos en el presente

30 documento incluyen, por ejemplo, anticuerpos anti-CD2 que se describen en las patentes de los EE. UU. N.º 5.795.572 y

5.807.734, cuyas descripciones se incorporan en el presente documento como referencia en lo que se refiere a anticuerpos anti-CD2 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, tales como el anticuerpo anti-CD2 producido por la línea celular de hibridoma depositada como depósito de la ATCC N.º HB 69277. Por ejemplo, los anticuerpos anti-CD2 y los fragmentos de unión a antígeno de los mismos que pueden usarse junto con las composiciones y métodos descritos en el presente documento incluyen aquellos que contienen una región bisagra que tiene una secuencia de aminoácidos de EPKSSDKTHTSPPSP (SEQ ID NO: 17), tales como fragmentos scFv que contienen una región bisagra que tiene la secuencia de aminoácidos de EPKSSDKTHTSPPSP (SEQ ID NO: 17). La incorporación de una región bisagra que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17 puede ser beneficiosa, ya que este motivo de bisagra se ha mutado en relación con las secuencias de la región de bisagra de tipo silvestre para eliminar restos de cisteína potencialmente reactivos que pueden promover la dimerización oxidativa indeseable de un fragmento de anticuerpo monocatenario, tal como un fragmento scFv.

Otros anticuerpos anti-CD2 que pueden usarse junto con las composiciones y los métodos descritos en el presente documento incluyen, por ejemplo, anticuerpos anti-CD2 que se describen en la Patente de los EE. UU. N.º 6.764.688, tales como el anticuerpo anti-CD2 TS2/18 y anticuerpos producidos por la línea celular de hibridoma depositada como depósito de la ATCC N.º HB-195. La divulgación de la patente de los EE. UU. N.º 6.764.688 se incorpora en el presente documento como referencia en lo que se refiere a anticuerpos anti-CD2 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos.

Otros anticuerpos anti-CD2 que pueden usarse junto con las composiciones y los métodos descritos en el presente documento incluyen, por ejemplo, anticuerpos anti-CD2 que se describen en las patentes de los EE. UU. n.º 6.162.432, 6.558.662, 7.408.039, 7.332.157, 7.638.121, 7.939.062 y 7.115.259, publicación de solicitud de patente de los EE. UU. 2006/0084107, 2014/0369974, 2002/0051784 y 2013/0183322, y la publicación de PCT N.º WO1992/016563, cuyas divulgaciones se incorporan en el presente documento como referencia en lo que se refiere a anticuerpos anti-CD2 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos.

Los anticuerpos y fragmentos de los mismos para su uso junto con los métodos que se describen en el presente documento incluyen variantes de los anticuerpos descritos anteriormente, tales como fragmentos de anticuerpos que contienen o carecen de un dominio Fc, así como variantes humanizadas de anticuerpos no humanos que se describen en el presente documento y armazones proteínicos similares a anticuerpos (por ejemplo, dominios ¹⁰Fn3) que contienen una o más, o todas, de las CDR o regiones equivalentes de las mismas de un anticuerpo, o un fragmento de anticuerpo, que se describe en el presente documento. Los fragmentos de unión a antígeno de ejemplo de los anticuerpos anteriores incluyen un dominio de inmunoglobulina de doble variable, una molécula Fv monocatenaria (scFv), un diacuerpo, un triacuerpo, un nanocuerpo, un armazón proteínico similar a anticuerpo, un fragmento Fv, un fragmento Fab, una molécula F(ab')₂ y un tándem di-scFv, entre otros.

En una realización, el anticuerpo anti-CD2, o fragmento

de unión del mismo, comprende una región Fc modificada, en donde dicha región Fc modificada comprende al menos una modificación de aminoácido con respecto a una región Fc de tipo silvestre, de manera que dicha molécula tiene una afinidad alterada para o unión a un FcγR (FcγR). Se sabe por estudios de cristalografía que determinadas posiciones de aminoácidos en la región Fc hacen contacto directo con FcγR. Específicamente, los aminoácidos 234-239 (región bisagra), los aminoácidos 265-269 (bucle B/C), los aminoácidos 297-299 (bucle C'/E) y los aminoácidos 327-332 (bucle F/G). (véase Sonderrmann et al., 2000 *Nature*, 406: 267-273). Los anticuerpos que se describen en el presente documento pueden comprender regiones Fc variantes que comprenden la modificación de al menos un resto que hace contacto directo con un FcγR basándose en análisis estructural y cristalográfico. En una realización, la región Fc del anticuerpo anti-CD2 (o fragmento del mismo) comprende una sustitución de aminoácido en el aminoácido 265 de acuerdo con el índice EU como en Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ª ed. Servicio de Salud Pública de los EE.UU., NIH, MD (1991), incorporado expresamente en el presente documento como referencia. El "índice EU como en Kabat" se refiere a la numeración del anticuerpo humano IgG1 UE. En una realización, la región Fc comprende una mutación D265A. En una realización, la región Fc comprende una mutación D265C. En algunas realizaciones, la región Fc del anticuerpo (o fragmento del mismo) comprende una sustitución de aminoácido en el aminoácido 234 de acuerdo con el índice EU como en Kabat. En una realización, la región Fc comprende una mutación L234A. En algunas realizaciones, la región Fc del anticuerpo anti-CD2 (o fragmento del mismo) comprende una sustitución de aminoácido en el aminoácido 235 de acuerdo con el índice EU como en Kabat.

En una realización, la región Fc comprende una mutación L235A. En otra realización más, la región Fc comprende una mutación L234A y L235A. En una realización adicional, la región Fc comprende una mutación D265C, L234A y L235A. En otra
 5 realización adicional más, la región Fc comprende una mutación D265C, L234A, L235A y H435A. En una realización adicional, la región Fc comprende una mutación D265C y H435A.

Los anticuerpos de la invención pueden modificarse por
 10 ingeniería genética adicionalmente para modular adicionalmente la semivida del anticuerpo mediante la introducción de mutaciones de Fc adicionales, tales como las que se describen, por ejemplo, en (Dall'Acqua et al. (2006) *J Biol Chem* 281: 23514-24), (Zalevsky et al. (2010) *Nat Biotechnol* 28: 157-9),
 15 (Hinton et al. (2004) *J Biol Chem* 279: 6213-6), (Hinton et al. (2006) *J Immunol* 176: 346-56), (Shields et al. (2001) *J Biol Chem* 276: 6591-604), (Petkova et al. (2006) *Int Immunol* 18: 1759-69), (Datta-Mannan et al. (2007) *Drug Metab Dispos* 35: 86-94), (Vaccaro et al. (2005) *Nat Biotechnol* 23: 1283-8),
 20 (Yeung et al. (2010) *Cancer Res* 70: 3269-77) y (Kim et al. (1999) *Eur J Immunol* 29: 2819-25) e incluyen las posiciones 250, 252, 253, 254, 256, 257, 307, 376, 380, 428, 434 y 435. Las mutaciones de ejemplo que pueden efectuarse de manera individual o en combinación son las mutaciones T250Q, M252Y,
 25 1253A, S254T, T256E, P257I, T307A, D376V, E380A, M428L, H433K, N434S, N434A, N434H, N434F, H435A y H435R.

En algunas realizaciones, el anticuerpo anti-CD2, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se conjuga con una
 30 citotoxina (por ejemplo, amatoxina) por medio de un resto de cisteína en el dominio Fc del anticuerpo, o fragmento de unión

a antígeno del mismo. En algunas realizaciones, el resto de cisteína se introduce por medio de una mutación en el dominio Fc del anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo. Por ejemplo, el resto de cisteína puede seleccionarse entre el

5 grupo que consiste en Cys118, Cys239 y Cys265. En una realización, la región Fc del anticuerpo anti-CD2 (o fragmento del mismo) comprende una sustitución de aminoácido en el aminoácido 265 de acuerdo con el índice EU como en Kabat. En una realización, la región Fc comprende una mutación D265C. En

10 una realización, la región Fc comprende una mutación D265C y una mutación H435A.

Por tanto, en una realización, la región Fc comprende una mutación que da como resultado una disminución de la semivida.

15 Un anticuerpo que tiene una semivida corta puede ser ventajoso en determinados casos en los que se espera que el anticuerpo actúe como un agente terapéutico de corta duración, por ejemplo, la etapa de acondicionamiento que se describe en el presente documento en la que el anticuerpo se administra

20 seguido de HSC. Idealmente, el anticuerpo se eliminaría sustancialmente antes de la entrega de las HSC, que generalmente también pueden expresar CD2 pero no son la diana del anticuerpo anti-CD2, a diferencia de las células madre endógenas. En una realización, la región Fc comprende una

25 mutación en la posición 435 (índice EU de acuerdo con Kabat). En una realización, la mutación es una mutación H435A.

Los anteriores anticuerpos anti-CD2, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, pueden usarse en diversos aspectos

30 de la invención que se expone en el presente documento, incluyendo, por ejemplo, en métodos para el agotamiento de

células CD2+ en un sujeto humano. Los anteriores anticuerpos anti-CD2, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, también pueden conjugarse con un agente, por ejemplo, una citotoxina, por ejemplo, una amatoxina, como se describe en el presente documento.

Métodos de identificación de anticuerpos anti-CD2

Los métodos para el cribado de alto rendimiento de bibliotecas de anticuerpos, o fragmentos de anticuerpos, que se unen a CD2 pueden usarse para identificar y evaluar la afinidad de agentes maduros útiles para acondicionar un paciente (por ejemplo, un paciente humano) que necesite terapia con células madre hematopoyéticas y/o para tratar directamente un cáncer o una enfermedad autoinmunitaria como se describe en el presente documento. Dichos métodos incluyen técnicas de presentación *in vitro* conocidas en la técnica, tales como presentación en fagos, presentación bacteriana, presentación en levaduras, presentación en células de mamífero, presentación en ribosomas, presentación en ARNm y presentación en ADNc, entre otras. El uso de la presentación en fagos para aislar anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno, que se unen a moléculas biológicamente pertinentes se ha revisado, por ejemplo, en Felici et al., *Biotechnol. Annual Rev.* 1:149-183, 1995; Katz, *Annual Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 26: 27-45, 1997; y Hoogenboom et al., *Immunotechnology* 4: 1-20, 1998, cuyas divulgaciones se incorporan en el presente documento como referencia en lo que se refiere a las técnicas de presentación *in vitro*. Se han construido bibliotecas de péptidos combinatorios aleatorios para seleccionar los polipéptidos que se unen a antígenos de superficie celular como se describe en Kay, *Perspect. Drug Discovery Des.* 2: 251-268, 1995 y Kay et

al., *Mol. Divers.* 1: 139-140, 1996, cuyas divulgaciones se incorporan en el presente documento como referencia en lo que se refiere al descubrimiento de moléculas de unión a antígeno. Se han presentado en fagos satisfactoriamente proteínas, tales como proteínas multiméricas, como moléculas funcionales (véanse, por ejemplo, los documentos EP 0349578; EP 4527839; y EP 0589877, así como Chiswell y McCafferty, *Trends Biotechnol.* 10: 80-84 1992, cuyas divulgaciones se incorporan en el presente documento como referencia en lo que se refiere al uso de técnicas de presentación *in vitro* para el descubrimiento de moléculas de unión a antígeno. Además, se han expresado fragmentos de anticuerpo funcionales, tales como fragmentos Fab y scFv, en formatos de presentación *in vitro* (véase, por ejemplo, McCafferty et al., *Nature* 348: 552-554, 1990; Barbas et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 7978-7982, 1991; y Clackson et al., *Nature* 352: 624-628, 1991, cuyas divulgaciones se incorporan en el presente documento como referencia en lo que se refiere a las plataformas de presentación *in vitro* para el descubrimiento de moléculas de unión a antígeno. Estas técnicas, entre otras, pueden usarse para identificar y mejorar la afinidad de anticuerpos, o fragmentos de anticuerpos, que se unen a CD2 que a su vez puede usarse para agotar linfocitos T CD2+ y/o linfocitos NK en un paciente (por ejemplo, un paciente humano) que necesite terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas y/o padezca cáncer o una enfermedad autoinmunitaria que se describe en el presente documento.

Pueden usarse técnicas adicionales para identificar anticuerpos, y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se unen a CD2 en la superficie de una célula (por ejemplo, un linfocito T o linfocito NK) y que son internalizados por la

célula, por ejemplo, por endocitosis mediada por receptor. Por ejemplo, las técnicas de presentación *in vitro* descritas anteriormente pueden adaptarse para detectar anticuerpos, y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se unen a CD2 en la superficie de un linfocito T o linfocito NK y que posteriormente se internalizan. La presentación en fagos representa una técnica de este tipo que puede usarse junto con este paradigma de detección sistemática. Para identificar anticuerpos anti-CD2, y fragmentos de los mismos, que se unen a CD2 y posteriormente son internalizados por linfocitos T y/o linfocitos NK, un experto en la materia puede usar las técnicas de presentación en fagos que se describen en Williams et al. *Leukemia* 19: 1432-1438, 2005, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad. Por ejemplo, usando métodos de mutagénesis conocidos en la técnica, pueden producirse bibliotecas de fagos recombinantes que codifican anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, tales como fragmentos scFv, fragmentos Fab, diacuerpos, triacuerpos y dominios ¹⁰Fn3, entre otros, o anticuerpos que contienen casetes de aminoácidos aleatorizados (por ejemplo, en una o más, o todas, las CDR o regiones equivalentes de las mismas o un anticuerpo o fragmento de anticuerpo). Las regiones marco conservadas, la bisagra, el dominio Fc y otras regiones de los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos pueden diseñarse de manera que no sean inmunogénicas en seres humanos, por ejemplo, en virtud de tener secuencias de anticuerpos de estirpe germinal humana o secuencias que presentan solamente variaciones menores con respecto a anticuerpos de estirpe germinal humana.

describen en el presente documento o que se conocen en la técnica, pueden incubarse bibliotecas de fagos que contienen anticuerpos aleatorizados, o fragmentos de anticuerpos, unidos covalentemente a las partículas de fago, con el antígeno CD2, por ejemplo, incubando en primer lugar la biblioteca de fagos con agentes de bloqueo (tal como, por ejemplo, proteína de leche, albúmina sérica bovina y/o IgG para retirar anticuerpos que codifican fagos, o fragmentos de los mismos, que presentan unión de proteína no específica y fagos que codifican anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a dominios Fc, y después incubando la biblioteca de fagos con una población de linfocitos T o linfocitos NK que son CD2+. La biblioteca de fagos puede incubarse con los linfocitos T o linfocitos NK durante un tiempo suficiente para permitir que anticuerpos específicos de CD2, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, se unan a CD2 de la superficie celular y posteriormente sean internalizados por los linfocitos T o linfocitos NK (por ejemplo, de 30 minutos a 6 horas a 4 °C, tal como 1 hora a 4 °C). Los fagos que contienen anticuerpos, o fragmentos de los mismos, que no presentan suficiente afinidad por CD2 para permitir la unión a, y la internalización por, linfocitos T o linfocitos NK pueden retirarse posteriormente lavando las células, por ejemplo, con tampón de glicina 0,1 M frío (4 °C) a pH 2,8. Los fagos unidos a anticuerpos, o fragmentos de los mismos, que han sido internalizados por los linfocitos T y/o linfocitos NK pueden identificarse, por ejemplo, lisando las células y recuperando el fago internalizado del medio de cultivo celular. El fago puede entonces amplificarse en células bacterianas, por ejemplo, incubando células bacterianas con fago recuperado en medio 2xYT usando métodos conocidos en la técnica. Los fagos

recuperados de este medio pueden caracterizarse, por ejemplo, determinando la secuencia de ácido nucleico del gen o los genes que codifican los anticuerpos, o fragmentos de los mismos, insertados dentro del genoma del fago. Los anticuerpos codificados, fragmentos de los mismos, pueden prepararse posteriormente *de novo* por síntesis química (por ejemplo, de fragmentos de anticuerpo, tales como fragmentos scFv) o por expresión recombinante (por ejemplo, de anticuerpos de longitud completa).

10

Un método de ejemplo para la evolución *in vitro* de anticuerpos anti-CD2 para su uso con las composiciones y métodos que se describen en el presente documento es la presentación en fagos. Pueden crearse bibliotecas de presentación en fagos haciendo una serie diseñada de mutaciones o variaciones dentro de una secuencia codificante para las CDR de un anticuerpo o las regiones análogas de un armazón similar a anticuerpo (por ejemplo, los bucles BC, CD y DE de dominios ¹⁰F_n3). La secuencia codificante de anticuerpo molde en la que se introducen estas mutaciones puede ser, por ejemplo, una secuencia de estirpe germinal humana virgen. Estas mutaciones pueden realizarse usando técnicas de mutagénesis convencionales conocidas en la técnica. Cada secuencia mutante, por tanto, codifica un anticuerpo correspondiente al molde, salvo una o más variaciones de aminoácidos. Pueden diseñarse vectores de presentación en retrovirus y fagos usando técnicas de construcción de vectores convencionales conocidas en la técnica. Pueden usarse vectores de presentación en fagos P3 junto con vectores de expresión de proteína compatibles para generar vectores de presentación en fagos para la diversificación de anticuerpos.

30

El ADN mutado proporciona diversidad de secuencia, y cada fago transformante presenta una variante de la secuencia de aminoácidos molde inicial codificada por el ADN, conduciendo a una población de fagos (biblioteca) que muestra una gran cantidad de secuencias de aminoácidos diferentes pero relacionadas estructuralmente. Debido a la estructura bien definida de las regiones hipervariables de anticuerpos, se espera que las variaciones de aminoácidos introducidas en un cribado de presentación en fagos alteren las propiedades de unión del péptido o dominio que se une sin alterar significativamente su estructura molecular global.

En un cribado típico, puede ponerse en contacto una biblioteca de fagos con CD2 o un epítipo del mismo y dejar que se unan. Para facilitar la separación de los que se unen de los que no, es conveniente inmovilizar la diana sobre un soporte sólido. Los fagos que llevan un resto de unión a CD2 pueden formar un complejo con la diana sobre el soporte sólido, mientras que los fagos que no se unen permanecen en solución y pueden retirarse por lavado con un exceso de tampón. El fago unido puede entonces liberarse de la diana cambiando el tampón a un pH extremo (pH 2 o pH 10), cambiando la fuerza iónica del tampón, añadiendo desnaturalizantes u otros medios conocidos.

El fago recuperado puede entonces amplificarse a través de la infección de células bacterianas, y el proceso de cribado puede repetirse con el nuevo grupo que ahora está agotado en anticuerpos que no se unen y enriquecido en anticuerpos que se unen a CD2. La recuperación de incluso unos pocos fagos que se unan es suficiente para amplificar el fago durante una iteración posterior de cribado. Después de algunas rondas de

selección, las secuencias de genes que codifican los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos derivados de clones de fagos seleccionados en el grupo de unión se determinan mediante métodos convencionales, revelando de este modo la secuencia peptídica que transmite afinidad de unión del fago a la diana. Durante el proceso de selección, la diversidad de secuencia de la población disminuye con cada ronda de selección hasta que permanecen los anticuerpos de unión a péptidos deseables. Las secuencias pueden converger en un pequeño número de anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos relacionados. Un aumento en el número de fagos recuperados en cada ronda de selección es un indicativo de que la convergencia de la biblioteca se ha producido en un cribado.

Otro método para identificar anticuerpos anti-CD2 incluye el uso de anticuerpos no humanos humanizadores que se unen a CD2, por ejemplo, de acuerdo con el siguiente procedimiento. Pueden humanizarse anticuerpos no humanos que se unen a CD2, por ejemplo, de acuerdo con el siguiente procedimiento. Se conocen en la técnica secuencias de la cadena pesada y de la cadena ligera de anticuerpos humanos de consenso (véase, por ejemplo, la base de datos de secuencias de estirpe germinal humana "VBASE"; Kabat et al. *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, quinta edición, Departamento de Salud y Servicios Sociales de los EE.UU., Publicación NIH N.º 91-3242, 1991; Tomlinson et al., *J. Mol. Biol.* 227: 776-798, 1992; y Cox et al. *Eur. J. Immunol.* 24: 827-836, 1994, cuyas divulgaciones se incorporan en el presente documento como referencia en lo que se refieren a secuencias de la cadena pesada y de la cadena ligera de anticuerpos humanos consenso.

Usando procedimientos establecidos, un experto en la materia puede identificar los restos de marco de dominio variable y CDR de una secuencia de anticuerpo consenso (por ejemplo, por alineación de secuencia). Pueden sustituirse una o más CDR de los dominios variables de la cadena pesada y/o de la cadena ligera de anticuerpo humano de consenso con una o más CDR correspondientes de un anticuerpo no humano que se une a CD2 con el fin de producir un anticuerpo humanizado. Este intercambio de CDR puede realizarse usando técnicas de edición génica que se describen en el presente documento o conocidas en la técnica.

Un ejemplo de un dominio variable de un anticuerpo humano consenso contiene el dominio variable de la cadena pesada

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSDYAMS**WVRQAPGKGLEWVAVISENGSDTYYA
DSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD**RGGA**VS**YFDV**WGQGLTVTVSS

(SEQ ID NO: 18) y el dominio variable de la cadena ligera

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQDVSS**YLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLES**GVPSR**
FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQYN**SL**PYTF**GGGTKVEIKRT (SEQ ID NO:

19), identificado en la Patente de los EE.UU. N.º 6.054.297, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en lo que se refiere a secuencias consenso de anticuerpos humanos. Las CDR en las secuencias anteriores se muestran en negrita.

Para producir anticuerpos humanizados, puede expresarse de forma recombinante un polinucleótido que codifica la secuencia consenso anterior en la que una o más CDR de la región variable se han reemplazado con una o más secuencias de CDR de región variable de un anticuerpo no humano que se une a CD2. Como la afinidad del anticuerpo por CD2 está determinada

principalmente por las secuencias de CDR, se espera que el anticuerpo humanizado resultante muestre una afinidad por CD2 que sea aproximadamente la misma que la del anticuerpo no humano del que deriva el anticuerpo humanizado. Los métodos de determinación de la afinidad de un anticuerpo por un antígeno diana incluyen, por ejemplo, técnicas basadas en ELISA que se describen en el presente documento y conocidas en la técnica, así como resonancia de plasmón superficial, anisotropía de fluorescencia y calorimetría de titulación isotérmica, entre otras.

La capacidad de internalización de los anticuerpos preparados, o fragmentos de los mismos, puede evaluarse, por ejemplo, usando ensayos de internalización de radionúclidos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los anticuerpos anti-CD2, o fragmentos de los mismos, identificados usando técnicas de presentación *in vitro* que se describen en el presente documento o conocidas en la técnica pueden funcionalizarse mediante la incorporación de un isótopo radiactivo, tal como ^{18}F , ^{75}Br , ^{77}Br , ^{122}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{129}I , ^{131}I , ^{211}At , ^{67}Ga , ^{111}In , ^{99}Tc , ^{169}Yb , ^{186}Re , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{177}Lu , ^{77}As , ^{72}As , ^{86}Y , ^{90}Y , ^{89}Zr , ^{212}Bi , ^{213}Bi o ^{225}Ac . Por ejemplo, pueden incorporarse halógenos radiactivos, tales como ^{18}F , ^{75}Br , ^{77}Br , ^{122}I , ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{129}I , ^{131}I , ^{211}At , en anticuerpos, o fragmentos de los mismos, usando perlas, tales como perlas de poliestireno, que contienen reactivos halógenos electrófilos (por ejemplo, perlas de Yodización, Thermo Fisher Scientific, Inc., Cambridge, MA). Pueden incubarse anticuerpos radiomarcados, o fragmentos de los mismos, con linfocitos T y/o linfocitos NK durante un tiempo suficiente para permitir la internalización (por ejemplo, de 30 minutos a 6 horas a 4 °C, tal como 1 hora a

4 °C). Las células pueden entonces lavarse para retirar los anticuerpos no internalizados, o fragmentos de los mismos (por ejemplo, usando tampón de glicina 0,1 M frío (4 °C) a pH 2,8). Pueden identificarse anticuerpos internalizados, o fragmentos de los mismos, detectando la radiación emitida (por ejemplo, radiación γ) de los linfocitos T y/o linfocitos NK resultantes en comparación con la radiación emitida (por ejemplo, radiación γ) del tampón de lavado recuperado.

10 Para la producción recombinante de un anticuerpo anti-CD2, se aísla ácido nucleico que codifica un anticuerpo, por ejemplo, como se ha descrito anteriormente, y se inserta en uno o más vectores para la clonación y/o expresión adicional en una célula hospedadora. Dicho ácido nucleico puede aislarse y secuenciarse fácilmente usando procedimientos convencionales (por ejemplo, usando sondas de oligonucleótidos que son capaces de unirse específicamente a genes que codifican las cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo).

20 Las células hospedadoras adecuadas para la clonación o expresión de los vectores que codifican anticuerpos incluyen células procariotas o eucariotas que se describen en el presente documento. Por ejemplo, pueden producirse anticuerpos en bacterias, en particular, cuando no se necesita la glicosilación ni la función efectora de Fc. Para la expresión de fragmentos de anticuerpo y polipéptidos en bacterias, véase, por ejemplo, las Patentes de los EE.UU. N.º 5.648.237, 5.789.199 y 5.840.523. (Véase también Charlton, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), págs. 245-254, que describe la expresión de fragmentos de anticuerpos en *E. coli*.) Después de la expresión,

el anticuerpo puede aislarse de la pasta de células bacterianas en una fracción soluble y puede purificarse adicionalmente.

Las células de vertebrados también pueden usarse como
5 hospedadoras. Por ejemplo, pueden ser útiles estirpes celulares de mamíferos que estén adaptadas para crecer en suspensión. Otros ejemplos de células de mamífero útiles son la estirpe CV1 de riñón de mono trasformada mediante SV40 (COS-7); estirpe de riñón embrionario humano (células 293 o 293 como se
10 describe, por ejemplo, en Graham et al., *J. Gen Virol.* 36: 59 (1977)); células de riñón de cría de hámster (BHK); células de sertoli de ratón (células TM4 como se describe, por ejemplo, en Mather, *Biol. Reprod.* 23: 243-251 (1980)); células de riñón de mono (CV1); células de riñón de mono verde africano (VERO-
15 76); células de carcinoma cervical humano (HELA); células de riñón canino (MDCK; células de hígado de rata búfalo (BRL 3A); células de pulmón humano (W138); células de hígado humano (Hep G2); tumor de mama de ratón (MMT 060562); células TRI, como se describe, por ejemplo, en Mather et al., *Annals N.Y. Acad. Sci.*
20 383: 44-68 (1982); células MCR 5; y células FS4. Otras estirpes celulares hospedadoras de mamífero útiles incluyen células de ovario de hámster chino (CHO), incluyendo células DHFR-CHO (Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 4216 (1980)); y estirpes celulares de mieloma tales como Y0, NS0 y Sp2/0. Para
25 una revisión de determinadas estirpes celulares hospedadoras de mamífero adecuadas para la producción de anticuerpos, véase, por ejemplo, Yazaki y Wu, *Methods in Molecular Biology*, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, N.J.), págs. 255-268 (2003). En una realización, la célula hospedadora es
30 eucariota, por ejemplo, una célula de ovario de hámster chino (CHO) o células linfoides (por ejemplo, célula Y0, NS0, Sp20).

Citotoxinas

5 Pueden conjugarse anticuerpos, y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se describen en el presente documento (por ejemplo, anticuerpos, fragmentos de unión a antígeno, que reconocen y se unen a CD2) con una citotoxina, tal como exotoxina A de *Pseudomonas*, deBouganina, toxina

10 diftérica, una amatoxina, tal como α -amanitina, saporina, maitansina, un maitansinoide, una auristatina, una antraciclina, una caliqueamicina, irinotecán, SN-38, una duocarmicina, una pirrolobenzodiacepina, un dímero de pirrolobenzodiacepina, una indolinobenzodiacepina y un dímero

15 de indolinobenzodiacepina, o una variante de los mismos, u otro compuesto citotóxico que se describe en el presente documento o conocido en la técnica con el fin de (i) tratar directamente un cáncer o una enfermedad autoinmunitaria que se describen en el presente documento o (ii) agotar las células inmunitarias

20 endógenas para prevenir o reducir la probabilidad de rechazo de células madre hematopoyéticas después del trasplante a un paciente (por ejemplo, un paciente humano) que necesite terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas. En algunas realizaciones, la molécula citotóxica se conjuga con un

25 anticuerpo de internalización, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de manera que después de la captación celular del anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno, la citotoxina pueda acceder a su diana intracelular y destruir linfocitos T y/o linfocitos NK endógenos. Las citotoxinas adecuadas para su

30 uso con las composiciones y métodos que se describen en el presente documento incluyen agentes intercaladores de ADN (por ejemplo, antraciclinas), agentes capaces de alterar el aparato

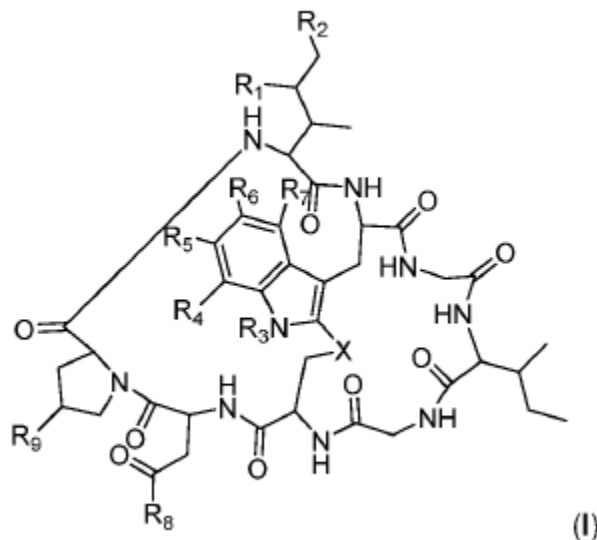
del huso mitótico (por ejemplo, alcaloides de la vinca, maitansina, maitansinoides y derivados de los mismos), inhibidores de la ARN polimerasa (por ejemplo, una amatoxina, tal como la α -amanitina, y derivados de la misma), agentes
5 capaces de alterar la biosíntesis de proteínas (por ejemplo, agentes que presentan actividad ARN-N-glicosidasa, tal como la cadena A de saporina y ricina), entre otros conocidos en la técnica.

10 En algunas realizaciones, la citotoxina del conjugado anticuerpo-fármaco es un inhibidor de ARN polimerasa. En algunas realizaciones, el inhibidor de ARN polimerasa es una amatoxina o derivado de la misma.

15 En algunas realizaciones, la citotoxina es una amatoxina o un derivado de la misma, tal como α -amanitina, β -amanitina, γ -amanitina, ϵ -amanitina, amanina, amaninamida, amanulina, ácido amanulínico y proamanulina. Las estructuras de las diversas amatoxinas de origen natural se representan por la
20 fórmula **III** y se desvelan, por ejemplo, en Zanotti et al., *Int. J. Peptide Protein Res.* 30, 1987, 450-459.

En una realización, la citotoxina es una amanitina. Por ejemplo, los anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno,
25 que se describen en el presente documento pueden unirse a una amatoxina para formar un conjugado representado por la fórmula Ab-Z-L-Am, en donde Ab es el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, L es un enlazador, Z es un resto químico y Am es una amatoxina. Muchas posiciones sobre amatoxinas o
30 derivados de las mismas pueden servir como posición para unir covalentemente el resto de unión L y, por tanto, los

anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos. En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula (I)



en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

5 R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

R_A y R_B , cuando están presentes, junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente sustituido;

10 R_3 es H, R_C o R_D ;

R_4 es H, OH, OR_C , ORD , R_C o R_D ;

R_5 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_6 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_7 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

15 R_8 es OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C o NR_CR_D ;

R_9 es H, OH, OR_C u OR_D ;

X es -S-, -S(O)- o -SO₂-;

R_C es -L-Z;

R_D es alquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquilo C₁-C₆), heteroalquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquilo C₁-C₆), alquenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquenilo C₂-C₆), heteroalquenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenilo C₂-C₆), alquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinilo C₂-

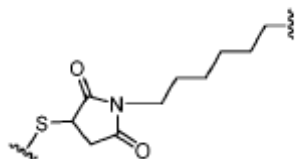
20

C₆), heteroalquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquinilo C₂-C₆), cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido;

L es un enlazador, tal como alquileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquileno C₁-C₆), heteroalquileno opcionalmente sustituido (heteroalquileno C₁-C₆), alquenileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquenileno C₂-C₆), heteroalquenileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenileno C₂-C₆), alquinileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinileno C₂-C₆), heteroalquinileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquinileno C₂-C₆), cicloalquileno opcionalmente sustituido, heterocicloalquileno opcionalmente sustituido, arileno opcionalmente sustituido, heteroarileno opcionalmente sustituido, un dipéptido, -C(=O)-, un péptido o una combinación de los mismos; y

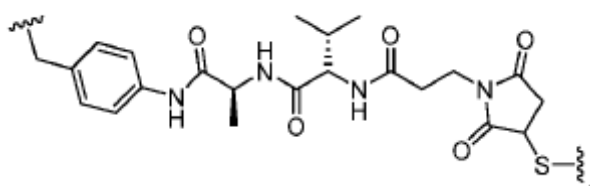
Z es un resto químico formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en L y un sustituyente reactivo presente en un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2.

En algunas realizaciones, Am contiene exactamente un sustituyente R_C. En algunas realizaciones, el enlazador comprende una unidad -(CH)_{2n}-, donde n es un número entero de 2 a 6. En algunas realizaciones, el enlazador incluye -((CH₂)_n) donde n es 6. En algunas realizaciones, L-Z es

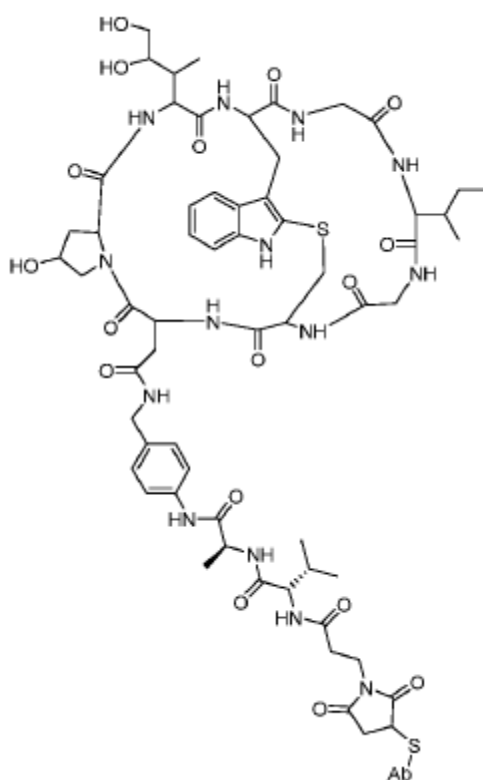


donde S es un átomo de azufre que representa el sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD117 (por ejemplo, del grupo -SH de un resto de cisteína).

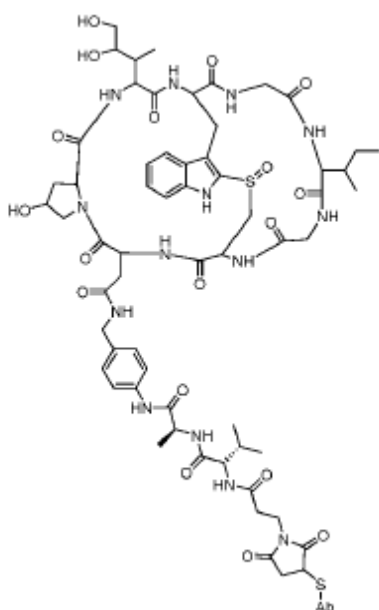
5 En algunas realizaciones, L-Z es



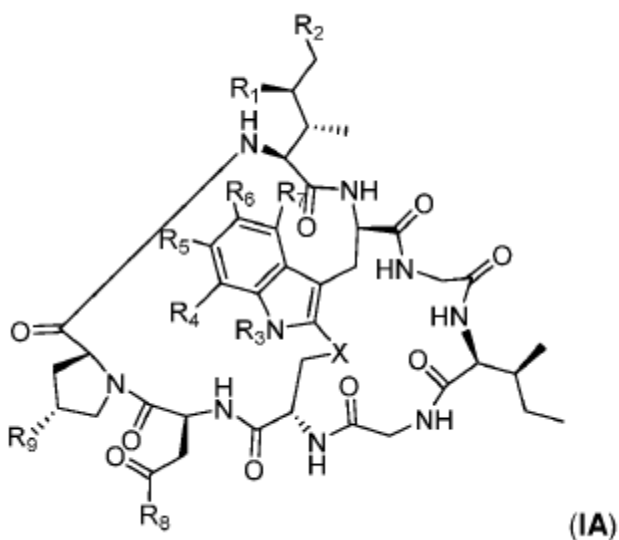
En algunas realizaciones, Am-L-Z-Ab es



En algunas realizaciones, Am-L-Z-Ab es



En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula (IA)



en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

5 R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

R_A y R_B , cuando están presentes, junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente sustituido;

10 R_3 es H, R_C o R_D ;

R_4 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_5 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_6 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_7 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

15 R_8 es OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C o NR_CR_D ;

R_9 es H, OH, OR_C u OR_D ;

X es -S-, -S(O)- o -SO₂-;

R_C es -L-Z;

R_D es alquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquilo C₁-C₆), heteroalquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquilo C₁-C₆), alquenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquenilo C₂-C₆), heteroalquenilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenilo C₂-C₆), alquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinilo C₂-

20

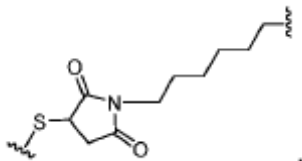
C₆), heteroalquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquinilo C₂-C₆), cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido;

L es un enlazador, tal como alquileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquileno C₁-C₆), heteroalquileno opcionalmente sustituido (heteroalquileno C₁-C₆), alquenileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquenileno C₂-C₆), heteroalquenileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenileno C₂-C₆), alquinileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinileno C₂-C₆), heteroalquinileno opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquinileno C₂-C₆), cicloalquileno opcionalmente sustituido, heterocicloalquileno opcionalmente sustituido, arileno opcionalmente sustituido, heteroarileno opcionalmente sustituido; un dipéptido, -C(=O)-, un péptido o una combinación de los mismos;

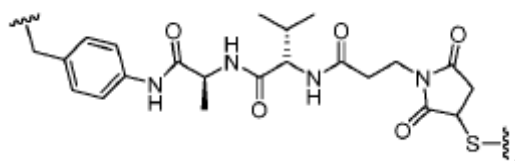
Z es un resto químico formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en L y un sustituyente reactivo presente en un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2; y

en donde Am contiene exactamente un sustituyente R_C.

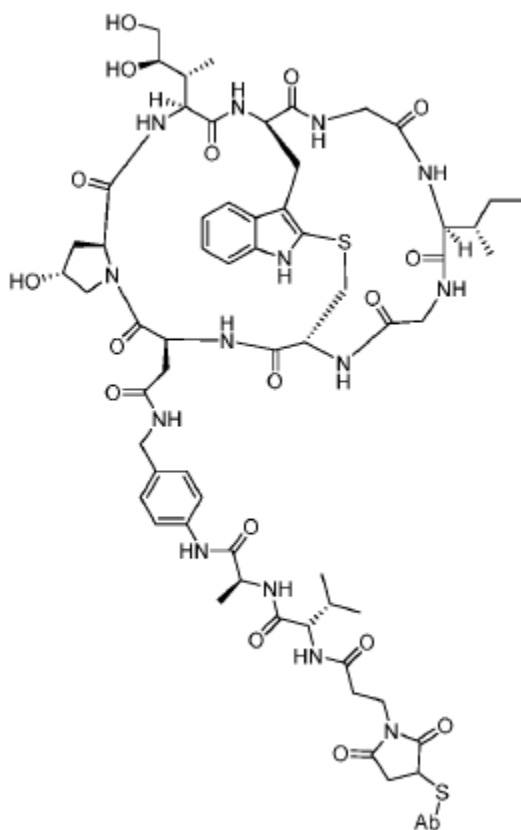
En algunas realizaciones, el enlazador incluye -((CH₂)_n) donde n es 6. En algunas realizaciones, L-Z es



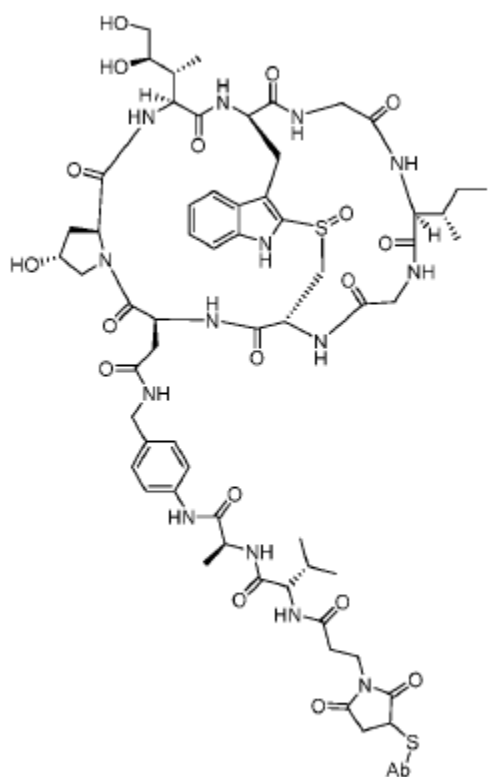
En algunas realizaciones, L-Z es



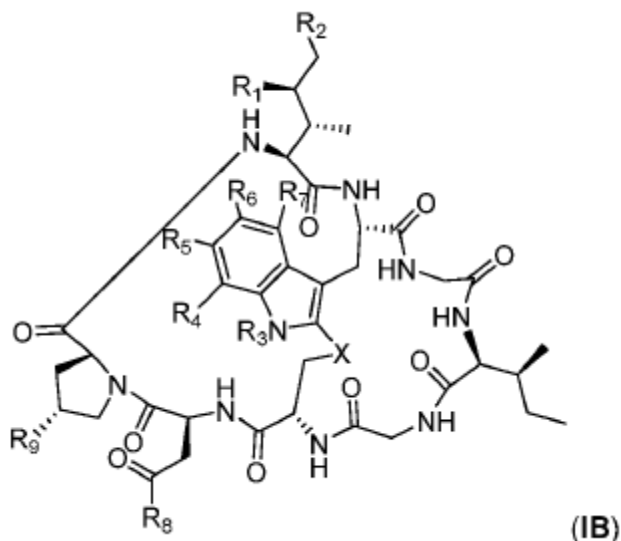
En algunas realizaciones, Am-L-Z-Ab es



En algunas realizaciones, Am-L-Z-Ab es



En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula (**IB**)



en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

R_A y R_B , cuando están presentes, junto con los átomos de
 5 oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un
 grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente
 sustituido;

R_3 es H, R_C o R_D ;

R_4 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

10 R_5 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_6 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_7 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C o NR_CR_D ;

R_9 es H, OH, OR_C u OR_D ;

15 X es $-S-$, $-S(O)-$ o $-SO_2-$;

R_C es $-L-Z$;

R_D es alquilo opcionalmente sustituido (por ejemplo,
 alquilo C_1-C_6), heteroalquilo opcionalmente sustituido (por
 ejemplo, heteroalquilo C_1-C_6), alquenilo opcionalmente
 20 sustituido (por ejemplo, alquenilo C_2-C_6), heteroalquenilo
 opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquenilo C_2-C_6),
 alquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquinilo C_2-
 C_6), heteroalquinilo opcionalmente sustituido (por ejemplo,
 heteroalquinilo C_2-C_6), cicloalquilo opcionalmente sustituido,

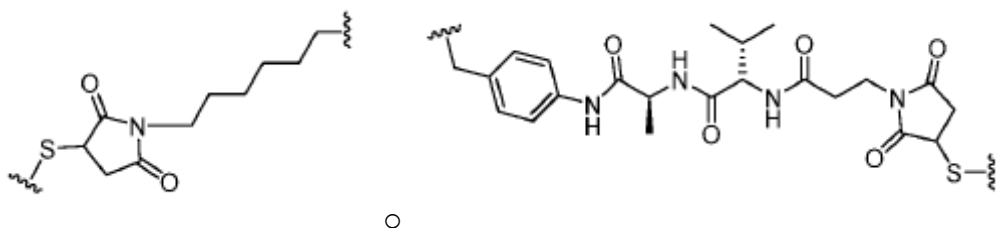
heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo
opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente
sustituido;

L es un enlazador, tal como alquilenos opcionalmente
5 sustituido (por ejemplo, alquilenos C_1-C_6), heteroalquilenos
opcionalmente sustituido (heteroalquilenos C_1-C_6), alquenilenos
opcionalmente sustituido (por ejemplo, alquenilenos C_2-C_6),
heteroalquenilenos opcionalmente sustituido (por ejemplo,
heteroalquenilenos C_2-C_6), alquinilenos opcionalmente sustituido
10 (por ejemplo, alquinilenos C_2-C_6), heteroalquinilenos
opcionalmente sustituido (por ejemplo, heteroalquinilenos C_2-C_6),
cicloalquilenos opcionalmente sustituido, heterocicloalquilenos
opcionalmente sustituido, arilenos opcionalmente
sustituido, un dipéptido, $-C(=O)-$, un péptido o una combinación
15 de los mismos;

Z es un resto químico formado a partir de una reacción de
acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en L y un
sustituyente reactivo presente en un anticuerpo, o fragmento
20 de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2; y

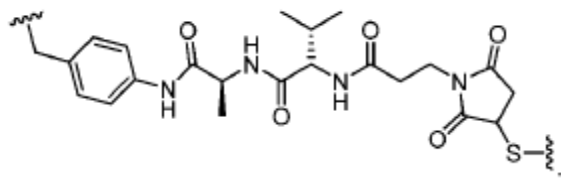
en donde Am contiene exactamente un sustituyente R_C .

En algunas realizaciones, el enlazador L y el resto
químico Z, tomados juntos como L-Z, es

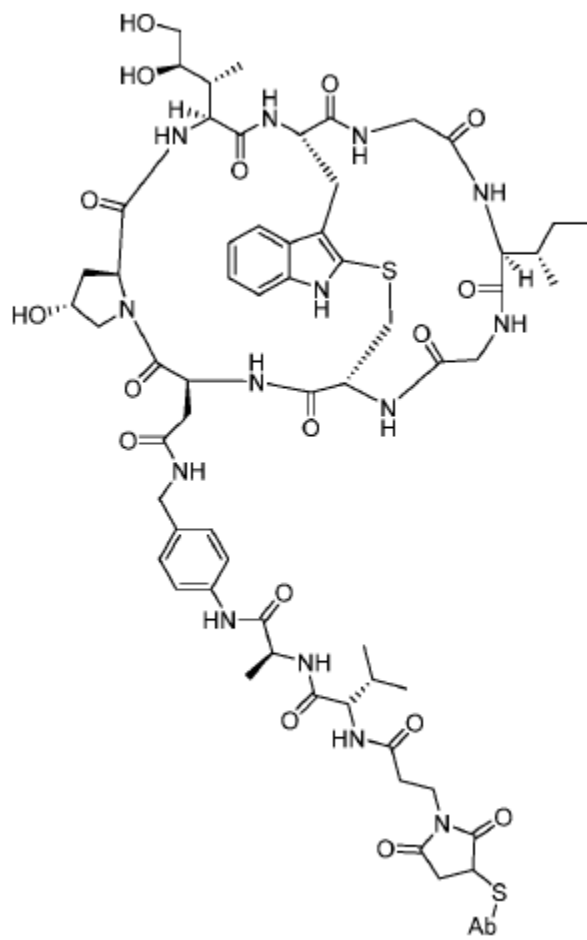


25

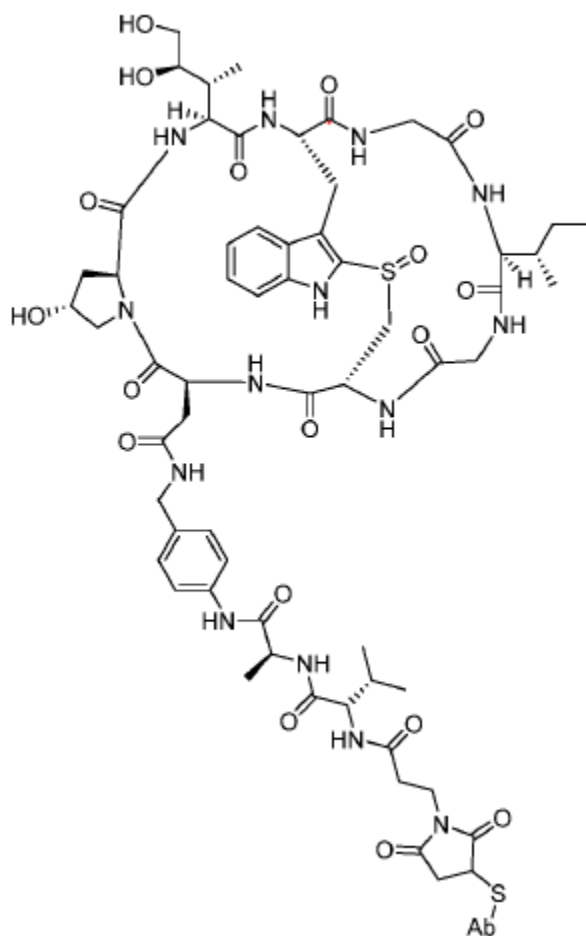
En algunas realizaciones, L-Z es



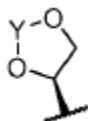
En algunas realizaciones, Am-L-Z-Ab es



En algunas realizaciones, Am-L-Z-Ab es



En algunas realizaciones, R_A y R_B , junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros de fórmula:



5

en donde Y es $-C(=O)-$, $-C(=S)-$, $-C(=NR_E)-$ o $-C(R_ER_{E'})-$; y R_E y $R_{E'}$ son cada uno independientemente alquileo $C_1-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, heteroalquileo $C_1-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, alquilenilo $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, heteroalquilenilo $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, alquinileno $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, heteroalquinileno $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, cicloalquileo- R_C opcionalmente sustituido, heterocicloalquileo- R_C opcionalmente sustituido, arileno- R_C opcionalmente sustituido o heteroarileno- R_C opcionalmente sustituido.

10

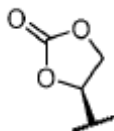
15

En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula **(IA)** o la fórmula **(IB)**,

en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

5 R_A y R_B , junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar:



R_3 es H o R_C ;

R_4 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

10 R_5 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_6 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_7 es H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C o NHR_C ;

R_9 es H u OH; y

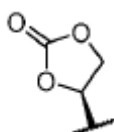
15 en donde X, R_C y R_D son cada uno como se han definido anteriormente.

En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula **(IA)** o la fórmula **(IB)**,

en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

20 R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

R_A y R_B , junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar:



R_3 es H o R_C ;

25 R_4 y R_5 son cada uno independientemente H, OH, OR_C , R_C u OR_D ;

R_6 y R_7 son cada uno H;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C o NHR_C ;

R_9 es H u OH; y

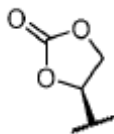
en donde X y R_C son como se han definido anteriormente.

En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula **(IA)** o la fórmula **(IB)**,

5 en donde R_1 es H, OH u OR_A ;

R_2 es H, OH u OR_B ;

R_A y R_B , junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar:



10 R_3 , R_4 , R_6 y R_7 son cada uno H;

R_5 es OR_C ;

R_8 es OH o NH_2 ;

R_9 es H u OH; y

en donde R_C es como se ha definido anteriormente. Dichos

15 conjugados de amatoxina se describen, por ejemplo, en la Publicación de Solicitud de Patente de los EE.UU. N.º 2016/0002298, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad.

20 En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula **(IA)** o la fórmula **(IB)**,

en donde R_1 y R_2 son cada uno independientemente H u OH;

R_3 es R_C ;

R_4 , R_6 y R_7 son cada uno H;

25 R_5 es H, OH u O-alquilo C_1-C_6 ;

R_8 es OH o NH_2 ;

R_9 es H u OH; y

en donde X y R_C son como se han definido anteriormente.

Dichos conjugados de amatoxina se describen, por ejemplo, en

30 la Publicación de Solicitud de Patente de los EE.UU.

N.º 2014/0294865, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad.

En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula (IA) o la fórmula (IB),

en donde R_1 y R_2 son cada uno independientemente H u OH;

R_3 , R_6 y R_7 son cada uno H;

R_4 y R_5 son cada uno independientemente H, OH, OR_C o R_C ;

R_8 es OH o NH_2 ;

R_9 es H u OH; y

en donde X y R_C son como se han definido anteriormente.

Dichos conjugados de amatoxina se describen, por ejemplo, en la Publicación de Solicitud de Patente de los EE.UU. N.º 2015/0218220, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad.

En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula (IA) o la fórmula (IB),

en donde R_1 y R_2 son cada uno independientemente H u OH;

R_3 , R_6 y R_7 son cada uno H;

R_4 y R_5 son cada uno independientemente H u OH;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C o NHR_C ;

R_9 es H u OH; y

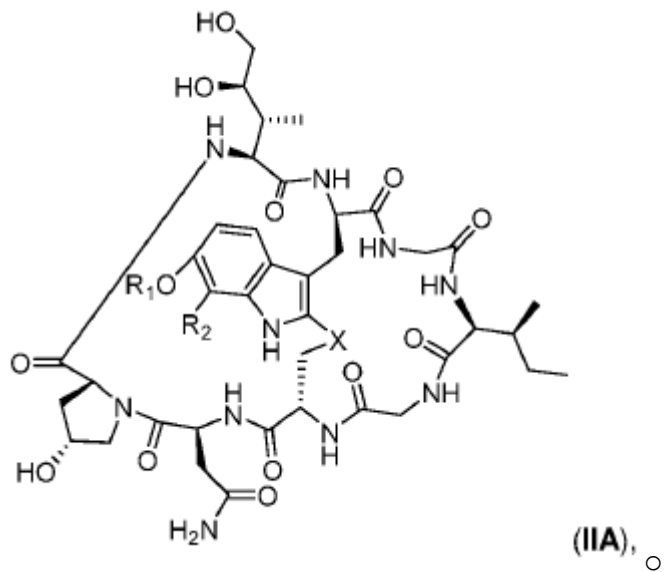
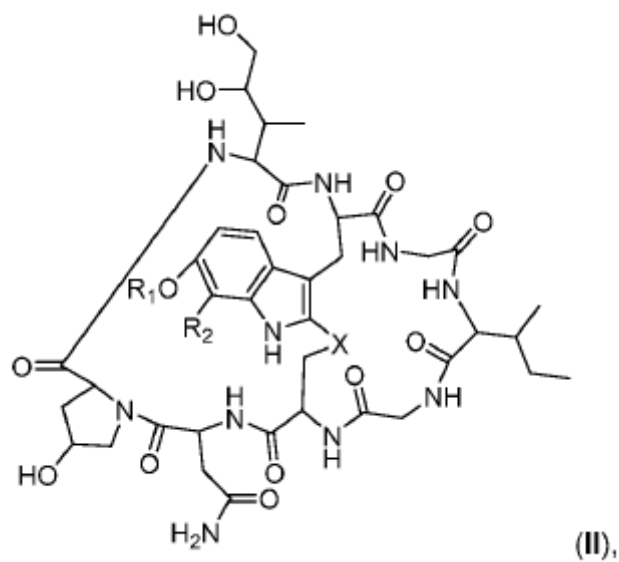
en donde R_C es como se ha definido anteriormente. Dichos conjugados de amatoxina se describen, por ejemplo, en las Patentes de los EE.UU. N.º 9.233.173 y 9.399.681, así como en el documento US 2016/0089450, cuyas divulgaciones se incorporan en el presente documento como referencia en su totalidad.

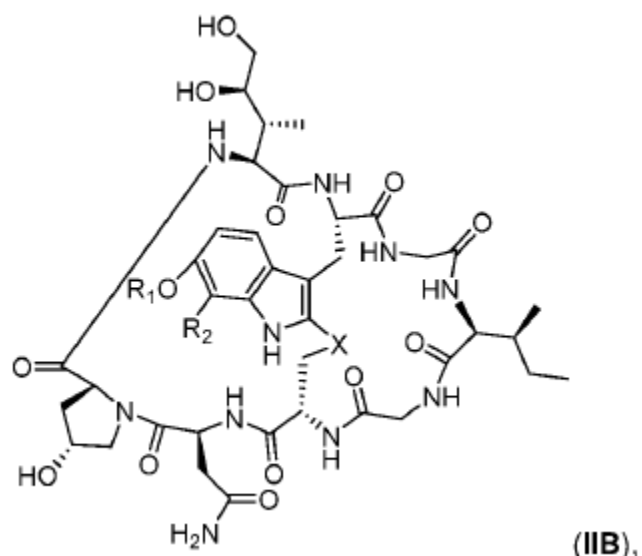
Las amatoxinas adicionales que pueden usarse para la conjugación con un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno

del mismo, de acuerdo con las composiciones y métodos que se describen en el presente documento se describen, por ejemplo, en los documentos WO 2016/142049; WO 2016/071856; y WO 2017/046658, cuyas divulgaciones se incorporan en el presente

5 documento como referencia en su totalidad.

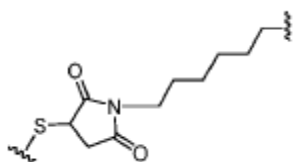
En algunas realizaciones, Am-L-Z se representa por la fórmula (II), la fórmula (IIA) o la fórmula (IIB)



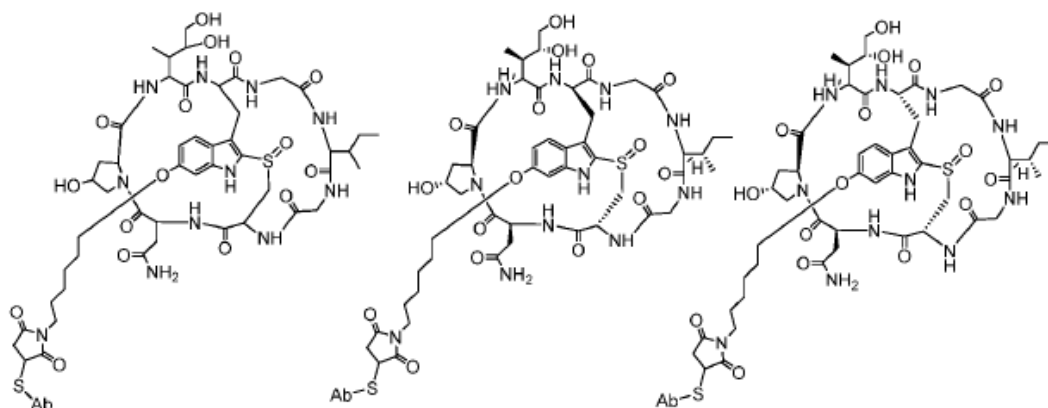


en donde X es S, SO o SO₂; R₁ es H o un enlazador unido covalentemente al anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo a través de un resto químico Z, formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en el enlazador y un sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo; y R₂ es H o un enlazador unido covalentemente al anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo a través de un resto químico Z, formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en el enlazador y un sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo; en donde cuando R₁ es H, R₂ es el enlazador y cuando R₂ es H, R₁ es el enlazador.

En algunas realizaciones, el enlazador incluye una unidad -(CH₂)_n-, donde n es un número entero de 2 a 6. En algunas realizaciones, R₁ es el enlazador y R₂ es H, y el enlazador y el resto químico, juntos como L-Z, es



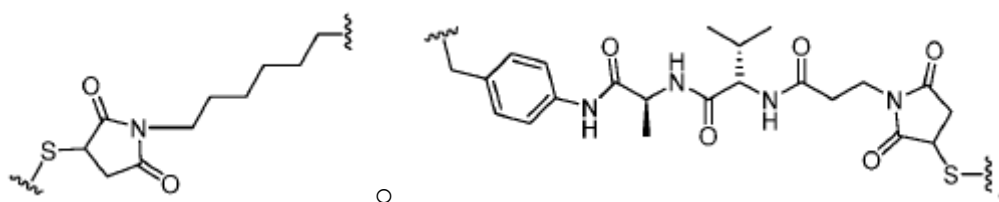
En algunas realizaciones, Am-L-Z-Ab es uno de entre:



En algunas realizaciones, la citotoxina es una α -amanitina. En algunas realizaciones, la α -amanitina es un compuesto de fórmula **III**. En algunas realizaciones, la α -amanitina de fórmula **III** se une a un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2 a través de un enlazador L. El enlazador L puede unirse a la α -amanitina de fórmula **III** en una cualquiera de varias posiciones posibles (por ejemplo, cualquiera de R^1 - R^9) para proporcionar un conjugado α -amanitina-enlazador de fórmula **I**, **IA**, **IB**, **II**, **IIA** o **IIB**. En algunas realizaciones, el enlazador se une en la posición R^1 . En algunas realizaciones, el enlazador se une en la posición R^2 . En algunas realizaciones, el enlazador se une en la posición R^3 . En algunas realizaciones, el enlazador se une en la posición R^4 . En algunas realizaciones, el enlazador se une en la posición R^5 . En algunas realizaciones, el enlazador se une en la posición R^6 . En algunas realizaciones, el enlazador se une en la posición R^7 . En algunas realizaciones, el enlazador se une en la posición R^8 . En algunas realizaciones, el enlazador se une en la posición R^9 . En algunas realizaciones, el enlazador incluye una hidrazina, un disulfuro, un tioéter o un dipéptido. En algunas realizaciones, el enlazador incluye un dipéptido seleccionado entre Val-Ala y Val-Cit. En algunas realizaciones, el enlazador incluye un grupo para-aminobencilo (PAB). En algunas realizaciones, el enlazador incluye el resto PAB-Cit-Val. En algunas realizaciones, el enlazador incluye el resto

PAB-Ala-Val. En algunas realizaciones, el enlazador incluye una unidad $-(\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_n-$, en donde n es un número entero de 1 a 6.

5 En algunas realizaciones, el enlazador incluye una unidad $-(\text{CH}_2)_n-$, donde n es un número entero de 2 a 6. En algunas realizaciones, el enlazador es $-\text{PAB-Cit-Val}-(\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_n-$. En algunas realizaciones, el enlazador es $-\text{PAB-Ala-Val}-(\text{C}=\text{O})(\text{CH}_2)_n-$. En algunas realizaciones, el enlazador L y el
10 resto químico Z, tomados juntos como L-Z, es



Los anticuerpos, y fragmentos de unión a antígeno, para su uso con las composiciones y métodos que se describen en el presente documento, pueden conjugarse con una amatoxina, tal
15 como α -amanitina o una variante de la misma, usando técnicas de conjugación conocidas en la técnica o que se describen en el presente documento. Por ejemplo, los anticuerpos, y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que reconocen y se unen a CD2 pueden conjugarse con una amatoxina, tal como α -
20 amanitina o una variante de la misma, como se describe en el documento US 2015/0218220, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en lo que se refiere, por ejemplo, a las amatoxinas, tales como la α -amanitina y variantes de la misma, así como enlazadores covalentes que
25 pueden usarse para la conjugación covalente. Los métodos sintéticos para fabricar amatoxinas se describen, por ejemplo, en la Patente de los EE.UU. N.º 9.676.702, que se incorpora como referencia en el presente documento con respecto a los métodos de síntesis que se describen en la misma.

Los anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno, para su uso con las composiciones y métodos que se describen en el presente documento pueden conjugarse con una amatoxina, tal como α -amanitina o una variante de la misma, usando técnicas de conjugación conocidas en la técnica o que se describen en el presente documento. Por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que reconocen y se unen a CD2 pueden conjugarse con una amatoxina, tal como α -amanitina o una variante de la misma, como se describe en el documento US 2015/0218220, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en lo que se refiere, por ejemplo, a las amatoxinas, tal como la α -amanitina y sus variantes, así como a los enlazadores covalentes que pueden usarse para la conjugación covalente.

Los conjugados anticuerpo-fármaco de ejemplo útiles junto con los métodos que se describen en el presente documento pueden formarse mediante la reacción de un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, con una amatoxina que se conjuga con un enlazador que contiene un sustituyente adecuado para la reacción con un resto reactivo en el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo. Las amatoxinas que se conjugan con un enlazador que contiene un sustituyente adecuado para la reacción con un resto reactivo en el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se describe en el presente documento incluyen, sin limitación,

7'C-(4-(6-(maleimido)hexanoilo)piperazin-1-il)-amatoxina; 7'C-(4-(6-(maleimido)hexanamido)piperidín-1-il)-amatoxina; 7'C-(4-(6-(6-(maleimido)hexanamido)hexanoil)piperazin-1-il)-amatoxina;

7'C-(4-(4-((maleimido)metil)ciclohexanocarbonil)piperazin-1-

- il)-amatoxina; 7'C-(4-(6-(4-
((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)hexanoil)piperazin-
1-il)-amatoxina; 7'C-(4-(2-(6-
(maleimido)hexanamido)etil)piperidin-1-il)-amatoxina; 7'C-(4-
5 (2-(6-(6-(maleimido)hexanamido)hexanamido)etil)piperidin-1-
il)-amatoxina; 7'C-(4-(2-(4-
((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)etil)piperidin-1-
il)-amatoxina; 7'C-(4-(2-(6-(4-
((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)hexanamido)etil)pipe
10 ridin-1-il)-amatoxina; 7'C-(4-(2-(3-
carboxipropanamido)etil)piperidin-1-il)-amatoxina; 7'C-(4-(2-
(2-bromoacetamido)etil)piperidin-1-il)-amatoxina; 7'C-(4-(2-
(3-(piridin-2-ildisulfanil)propanamido)etil)piperidin-1-il)-
amatoxina; 7'C-(4-(2-(4-(maleimido)butanamido)etil)piperidin-
15 1-il)-amatoxina; 7'C-(4-(2-(maleimido)acetil)piperazin-1-il)-
amatoxina; 7'C-(4-(3-(maleimido)propanoil)piperazin-1-il)-
amatoxina; 7'C-(4-(4-(maleimido)butanoil)piperazin-1-il)-
amatoxina; 7'C-(4-(2-(6-(4-
((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)hexanamido)etil)pipe
20 ridin-1-il)-amatoxina; 7'C-(3-((6-
(maleimido)hexanamido)metil)pirrolidin-1-il)-amatoxina; 7'C-
(3-((6-(6-(maleimido)hexanamido)hexanamido)metil)pirrolidin-
1-il)-amatoxina; 7'C-(3-((4-
((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)metil)pirrolidin-1-
25 il)-amatoxina; 7'C-(3-((6-((4-
(maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)hexanamido)metil)pirr
olidin-1-il)-amatoxina; 7'C-(4-(2-(6-(2-
(aminoxil)acetamido)hexanamido)etil)piperidin-1-il)-
amatoxina; 7'C-(4-(2-(4-(2-
30 (aminoxil)acetamido)butanamido)etil)piperidin-1-il)-
amatoxina; 7'C-(4-(4-(2-

- (aminooxi)acetamido)butanoil)piperazin-1-il)-amatoxina; 7'C-(4-(6-(2-(aminooxi)acetamido)hexanoil)piperazin-1-il)-amatoxina; 7'C-((4-(6-(maleimido)hexanamido)piperidin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(2-(6-(maleimido)hexanamido)etil)piperidin-1-il)metil)-amatoxina;
- 5 (maleimido)hexanamido)etil)piperidin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(6-(maleimido)hexanoil)piperazin-1-il)metil)-amatoxina; (R)-7'C-((3-((6-(maleimido)hexanamido)metil)pirrolidin-1-il)metil)-amatoxina; (S)-7'C-((3-((6-(maleimido)hexanamido)metil)pirrolidin-1-
- 10 il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(2-(6-(6-(maleimido)hexanamido)hexanamido)etil)piperidin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(2-(4-((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)etil)piperidin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(2-(6-(4-((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)hexanamido)etil)pipe-
- 15 ridin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(2-(6-(maleimido)hexanamido)etil)piperazin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(2-(6-(6-(maleimido)hexanamido)hexanamido)etil)piperazin-1-il)metil)-amatoxina;
- 20 amatoxina; 7'C-((4-(2-(4-((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)etil)piperazin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(2-(6-(4-((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)hexanamido)etil)pipe-
- razin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((3-((6-(6-(maleimido)hexanamido)hexanamido)-S-metil)pirrolidin-1-
- 25 il)metil)-amatoxina; 7'C-((3-((6-(6-(maleimido)hexanamido)hexanamido)-R-metil)pirrolidin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((3-((4-((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)-S-metil)pirrolidin-
- 30 1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((3-((4-((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)-R-metil)pirrolidin-

- 1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((3-((6-(4-
 ((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)hexanamido)metil)pir
 rolidin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(2-(3-
 carboxipropanamido)etil)piperazin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-
 5 ((4-(6-(6-(maleimido)hexanamido)hexanoil)piperazin-1-
 il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(6-(4-
 ((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)hexanoil)piperazin-
 1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(2-
 (maleimido)acetil)piperazin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-
 10 (3-(maleimido)propanoil)piperazin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-
 ((4-(4-(maleimido)butanoil)piperazin-1-il)metil)-amatoxina;
 7'C-((4-(2-(2-(maleimido)acetamido)etil)piperidin-1-
 il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(2-(4-
 (maleimido)butanamido)etil)piperidin-1-il)metil)-amatoxina;
 15 7'C-((4-(2-(6-(4-
 ((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)hexanamido)etil)pipe
 ridin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((3-((6-
 (maleimido)hexanamido)metil)azetidin-1-il)metil)-amatoxina;
 7'C-((3-(2-(6-(maleimido)hexanamido)etil)azetidin-1-
 20 il)metil)-amatoxina; 7'C-((3-((4-
 ((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)metil)azetidin-1-
 il)metil)-amatoxina; 7'C-((3-(2-(4-
 ((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)etil)azetidin-1-
 il)metil)-amatoxina; 7'C-((3-(2-(6-(4-
 25 ((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)hexanamido)etil)azet
 idin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((2-(6-(maleimido)-N-
 metilhexanamido)etil)(metil)amino)metil)-amatoxina; 7'C-((4-
 (6-(maleimido)-N-metilhexanamido)butil(metil)amino)metil)-
 amatoxina; 7'C-((2-(2-(6-(maleimido)hexanamido)etil)aziridin-
 30 1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((2-(2-(6-(4-
 ((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)hexanamido)etil)azir

- idin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(6-(2-(aminooxi)acetamido)hexanamido)hexanoil)piperazin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(1-(aminooxi)-2-oxo-6,9,12,15-tetraoxa-3-azaheptadecan-17-oil)piperazin-1-il)metil)-amatoxina;
- 5 amatoxina; 7'C-((4-(2-(2-(aminooxi)acetamido)acetyl)piperazin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(3-(2-(aminooxi)acetamido)propanoil)piperazin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(4-(2-(aminooxi)acetamido)butanoil)piperazin-1-il)metil)-amatoxina;
- 10 7'C-((4-(2-(6-(2-(aminooxi)acetamido)hexanamido)etil)piperidin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(2-(2-(2-(aminooxi)acetamido)acetamido)etil)piperidin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(2-(4-(2-(aminooxi)acetamido)butanamido)etil)piperidin-1-il)metil)-amatoxina;
- 15 amatoxina; 7'C-((4-(20-(aminooxi)-4,19-dioxo-6,9,12,15-tetraoxa-3,18-diazaicosil)piperidin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-(((2-(6-(2-(aminooxi)acetamido)-N-metilhexanamido)etil)(metil)amino)metil)-amatoxina; 7'C-(((4-(6-(2-(aminooxi)acetamido)-N-metilhexanamido)butil)(metil)amino)metil)-amatoxina; 7'C-((3-((6-(4-((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)hexanamido)metil)pirrolidin-1-il)-S-metil)-amatoxina; 7'C-((3-((6-(4-((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)hexanamido)-R-metil)pirrolidin-1-il)metil)-amatoxina;
- 20 7'C-((4-(2-(2-bromoacetamido)etil)piperazin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(2-(2-bromoacetamido)etil)piperidin-1-il)metil)-amatoxina; 7'C-((4-(2-(3-(piridin-2-ildisulfanil)propanamido)etil)piperidin-1-il)metil)-amatoxina; 6'O-(6-(6-(maleimido)hexanamido)hexil)-amatoxina;
- 25 30

6'O-(5-(4-((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)pentil)-
 amatoxina; 6'O-(2-((6-(maleimido)hexil)oxi)-2-oxoetil)-
 amatoxina; 6'O-((6-(maleimido)hexil)carbamoil)-amatoxina;
 6'O-((6-(4-

5 ((maleimido)metil)ciclohexanocarboxamido)hexil)carbamoil)-
 amatoxina; 6'O-(6-(2-bromoacetamido)hexil)-amatoxina; 7'C-(4-
 (6-(azido)hexanamido)piperidin-1-il)-amatoxina; 7'C-(4-(hex-
 5-inoilamino)piperidin-1-il)-amatoxina; 7'C-(4-(2-(6-
 (maleimido)hexanamido)etil)piperazin-1-il)-amatoxina; 7'C-(4-
 10 (2-(6-(6-(maleimido)hexanamido)hexanamido)etil)piperazin-1-
 il)-amatoxina; 6'O-(6-(6-(11,12-dideshidro-5,6-dihidro-
 dibenz[b,f]azocin-5-il)-6-oxohexanamido)hexil)-amatoxina;
 6'O-(6-(hex-5-inoilamino)hexil)-amatoxina; 6'O-(6-(2-
 (aminoxil)acetilamido)hexil)-amatoxina; 6'O-((6-
 15 aminoxil)hexil)-amatoxina; y 6'O-(6-(2-iodoacetamido)hexil)-
 amatoxina. Los enlazadores anteriores, entre otros útiles junto
 con las composiciones y métodos que se describen en el presente
 documento, se describen, por ejemplo, en la Publicación de
 Solicitud de Patente de los EE.UU. N.º 2015/0218220, cuya
 20 divulgación se incorpora en el presente documento como
 referencia en su totalidad.

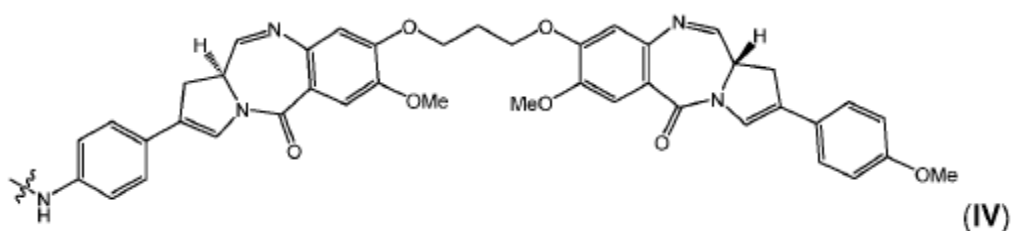
Las citotoxinas adicionales que pueden conjugarse con
 anticuerpos, y fragmentos de unión a antígeno de los mismos,
 25 que reconocen y se unen a CD2 para su uso en el tratamiento
 directamente de un cáncer, afección autoinmunitaria, o para
 acondicionar un paciente (por ejemplo, un paciente humano) en
 la preparación para terapia de trasplante de células madre
 hematopoyéticas incluyen, sin limitación, 5-etiniluracilo,
 30 abiraterona, acilfulveno, adecipenol, adozelesina,
 aldesleucina, altretamina, ambamustina, amidox, amifostina,

ácido aminolevulínico, amrubicina, amsacrina, anagrelida,
 anastrozol, andrografólido, inhibidores de la angiogénesis,
 antarelix, proteína morfogenética anti-dorsalización 1,
 antiandrógeno, carcinoma prostático, antiestrógeno,
 5 antineoplastón, oligonucleótidos antisentido, glicinato de
 afidicolina, moduladores del gen de la apoptosis, reguladores
 de la apoptosis, ácido apurínico, asulacrina, atamestano,
 atrimustina, axinastatina 1, axinastatina 2, axinastatina 3,
 azasetrón, azatoxina, azatirosina, derivados de baccatina III,
 10 balanol, batimastat, antagonistas de BCR/ABL, benzoclorinas,
 benzoilestaurosporina, derivados de beta lactama, beta-
 aletina, betaclamicina B, ácido betulínico, inhibidores de
 bFGF, bicalutamida, bisantreno, bisaziridinilespermina,
 bisnafida, bistrateno A, bizelesina, breflato, bleomicina A2,
 15 bleomicina B2, bropirimina, budotitano, butionina sulfoximina,
 calcipotriol, calfostina C, derivados de camptotecina (por
 ejemplo, 10-hidroxi-camptotecina), capecitabina, carboxamida-
 amino-triazol, carboxiamidotriazol, carzelesina, inhibidores
 de la caseína cinasa, castanoespermina, cecropina B,
 20 cetorelix, cloro, cloroquinoxalina sulfonamida, cicaprost,
 cis-porfirina, cladribina, clomifeno y análogos de los mismos,
 clotrimazol, collismicina A, collismicina B, combretastatina
 A4, análogos de combretastatina, conagenina, crambescidina
 816, crisnatol, criptoficina 8, derivados de criptoficina A,
 25 curacina A, ciclopentantraquinonas, cicloplatam, cipemicina,
 ocfosfato de citarabina, factor citolítico, citostatina,
 dacliximab, decitabina, deshidrodidemnina B,
 2'desoxicoformicina (DCF), deslorelina, dexifosfamida,
 dexrazoxano, dexverapamilo, diazicuona, didemnina B, didox,
 30 dietilnorespermina, dihidro-5-azacitidina, dihidrotaxol,
 dioxamicina, difenil espiromustina, discodermolida, docosanol,

dolasetrón, doxifluridina, droloxifeno, dronabinol, duocarmicina SA, ebselén, ecomustina, edelfosina, edrecolomab, eflornitina, elemeno, emitefur, epotilonas, epitilonas, epristerida, estramustina y análogos de la misma, etopósido, 4'-fosfato de etopósido (también denominado etopofós), exemestano, fadrozol, fazarabina, fenretinida, filgrastim, finasterida, flavopiridol, flezelastina, fluasterona, fludarabina, clorhidrato de fluorodaunorrubicina, forfenimex, formestano, fostriecina, fotemustina, gadolinio texafirina, nitrato de galio, galocitabina, ganirelix, inhibidores de la gelatinasa, gemcitabina, inhibidores de glutatión, hepsulfam, homoharringtonina (HHT), hipericina, ácido ibandrónico, idoxifeno, idramantona, ilmofosina, ilomastat, imidazoacridonas, imiquimod, péptidos inmunoestimulantes, iobenguano, yododoxorrubicina, ipomeanol, irinotecán, iroplact, irsogladina, isobengazol, jasplaquinolida, kahalalida F, N triacetato de lamellarina, lanreótido, leinamicina, lenograstim, sulfato de lentinano, leptolstatina, letrozol, compuestos de platino lipófilos, lisoclinamida 7, lobaplatino, lometrexol, lonidamina, losoxantrona, loxorribina, lurtotecán, lutecio texafirina, lisofilina, masoprocol, maspin, inhibidores de la metaloproteínasa de la matriz, menogaril, merbarona, meterelina, metioninasa, metoclopramida, inhibidor de MIF, ifepristona, miltefosina, mirimostim, mitracina, mitoguazona, mitolactol, mitomicina y análogos de la misma, mitonafida, mitoxantrona, mofaroteno, molgramostim, micaperóxido B, miriaporona, N-acetildinalina, benzamidas N-sustituidas, nafarelina, nagrestip, napavina, nafterpina, nartograstim, nedaplatino, nemorrubicina, ácido neridrónico, nilutamida, nisamicina, nitrulina, octreótido, okicenona, onapristona, ondansetrón, oracina, ormaplatino,

oxaliplatino, oxaunomicina, paclitaxel y análogos del mismo, palauamina, palmitoilrizoxina, ácido pamidrónico, panaxitriol, panomifeno, parabactina, pazeliptina, pegaspargasa, peldesina, polisulfato de pentosano sódico, pentostatina, pentrozol, 5 perflubrón, perfosfamida, fenazinomicina, picibanilo, pirarrubicina, piritrexim, podofilotoxina, porfiromicina, inhibidores de la purina nucleósido fosforilasa, raltitrexed, rizoxina, rogletimida, rohitucina, rubiginona B1, ruboxilo, safingol, saintopina, sarcositol A, sargramostim, sobuzoxano, 10 sonermina, ácido esparfósico, espicamicina D, espiromustina, estipiamida, sulfinosina, talimustina, tegafur, temozolomida, tenipósido, taliblastina, tiocoralina, tirapazamina, topotecán, topsentina, triciribina, trimetrexato, veramina, vinorelbina, vinxaltina, vorozol, zeniplatino y zilascorb, 15 entre otros.

En algunas realizaciones, la citotoxina es un dímero de pirrolobenzodiacepina representado por la fórmula (IV):



20 Se pueden usar diversos enlazadores para conjugar anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno descritos en el presente documento que reconocen y se unen a CD2, con una molécula citotóxica.

25 El término "enlazador", como se usa en el presente documento, significa un resto químico divalente que comprende un enlace covalente o una cadena de átomos que une covalentemente un anticuerpo o fragmento del mismo (Ab) a un

resto de fármaco (D) para formar conjugados anticuerpo-fármaco de la presente divulgación (ADC; Ab-Z-LD, donde D es una citotoxina). Los enlazadores adecuados tienen dos extremos reactivos, uno para la conjugación con un anticuerpo y el otro para la conjugación con una citotoxina. El extremo reactivo de conjugación con anticuerpo del enlazador (resto reactivo, Z) es normalmente un sitio que es capaz de conjugarse con el anticuerpo a través de un grupo cisteína tiol o lisina amina en el anticuerpo y, por tanto, es normalmente un grupo reactivo con tiol tal como un doble enlace (como en maleimida) o un grupo saliente tal como cloro, bromo, yodo o un grupo R-sulfanilo, o un grupo reactivo con amina tal como un grupo carboxilo; aunque el extremo reactivo de conjugación con anticuerpo del enlazador normalmente se encuentra en un sitio que es capaz de conjugarse con la citotoxina mediante la formación de un enlace de amida con un grupo básico de amina o carboxilo en la citotoxina y, por tanto, es normalmente un grupo carboxilo o amina básica. Cuando el término "enlazador" se usa para describir el enlazador en forma conjugada, uno o ambos extremos reactivos estarán ausentes (tal como el resto reactivo Z, que se ha convertido en el resto químico Z) o incompletos (tal como solo el carbonilo del ácido carboxílico) debido a la formación de los enlaces entre el enlazador y/o la citotoxina, y entre el enlazador y/o el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo. Dichas reacciones de conjugación se describen adicionalmente a continuación en el presente documento.

En algunas realizaciones, el enlazador es escindible en condiciones intracelulares, de manera que la escisión del enlazador libera la unidad de fármaco del anticuerpo en el

entorno intracelular. En otras realizaciones más, la unidad de enlazador no es escindible y el fármaco se libera, por ejemplo, por degradación de anticuerpos. Los enlazadores útiles para los presentes ADC son preferentemente estables extracelularmente, evitan la agregación de moléculas de ADC y mantienen el ADC libremente soluble en medios acuosos y en un estado monomérico. Antes del transporte o entrega dentro de una célula, el ADC es preferentemente estable y permanece intacto, es decir, el anticuerpo permanece unido al resto de fármaco. Los enlazadores son estables fuera de la célula diana y pueden escindirse a una determinada velocidad eficaz dentro de la célula. Un enlazador eficaz: (i) mantiene las propiedades de unión específicas del anticuerpo; (ii) permite la entrega intracelular del conjugado o resto de fármaco; (iii) permanece estable e intacto, es decir, no escindido, hasta que el conjugado se haya entregado o transportado a su sitio diana; y (iv) mantiene un efecto citotóxico, de destrucción de células o un efecto citostático del resto citotóxico. La estabilidad del ADC puede medirse mediante técnicas analíticas convencionales tales como la espectroscopía de masas, HPLC y la técnica de separación/análisis CL/EM. La unión covalente del anticuerpo y el resto de fármaco requiere que el enlazador tenga dos grupos funcionales reactivos, es decir, bivalencia en un sentido reactivo. Se conocen reactivos enlazadores bivalentes que son útiles para unir dos o más restos funcionales o biológicamente activos, tales como péptidos, ácidos nucleicos, fármacos, toxinas, anticuerpos, haptenos y grupos indicadores, y se han descrito métodos para sus conjugados resultantes (Hermanson, G. T. (1996) *Bioconjugate Techniques*; Academic Press: New York, págs. 234-242).

Los enlazadores incluyen aquellos que pueden escindirse, por ejemplo, por hidrólisis enzimática, fotólisis, hidrólisis en condiciones ácidas, hidrólisis en condiciones básicas, oxidación, reducción de disulfuro, escisión nucleófila o escisión organometálica (véase, por ejemplo, Leriche et al., *Bioorg. Med.* 20: 571-582, 2012, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en lo que se refiere a enlazadores adecuados para la conjugación covalente).

Los enlazadores hidrolizables en condiciones ácidas incluyen, por ejemplo, hidrazonas, semicarbazonas, tiosemicarbazonas, amidas cis-aconíticas, ortoésteres, acetales, cetales o similares. (Véanse, por ejemplo, las Patentes de los EE.UU. N.º 5.122.368; 5.824.805; 5.622.929; Dubowchik y Walker, 1999, *Pharm. Therapeutics* 83: 67-123; Neville et al., 1989, *Biol. Chem.* 264: 14653-14661, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad en lo que se refiere a enlazadores adecuados para la conjugación covalente. Dichos enlazadores son relativamente estables en condiciones de pH neutro, tales como las de la sangre, pero son inestables a un pH inferior de 5,5 o 5,0, el pH aproximado del lisosoma.

Los enlazadores escindibles en condiciones reductoras incluyen, por ejemplo, un disulfuro. En la técnica se conoce una diversidad de enlazadores de disulfuro, incluyendo, por ejemplo, aquellos que pueden formarse usando SATA (N-succinimidil-S-acetiltioacetato), SPDP (N-succinimidil-3-(2-piridilditio)propionato), SPDB (N-succinimidil-3-(2-piridilditio)butirato) y SMPT (N-succinimidil-oxicarbonil-alfa-metil-alfa-(2-piridil-ditio)tolueno), SPDB y SMPT (Véase,

por ejemplo, Thorpe et al., 1987, *Cancer Res.* 47: 5924-5931; Wawrzynczak et al., *In Immunoconjugates: Antibody Conjugates in Radioimagery and Therapy of Cancer* (C. W. Vogel ed., Oxford U. Press, 1987. Véase también la Patente de los EE.UU.

- 5 N.º 4.880.935, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad en lo que se refiere a enlazadores adecuados para la conjugación covalente.

Los ejemplos de enlazadores útiles para la síntesis de
10 conjugados fármaco-anticuerpo incluyen aquellos que contienen electrófilos, tales como aceptores de Michael (por ejemplo, maleimidas), ésteres activados, compuestos de carbonilo deficientes en electrones y aldehídos, entre otros, adecuados para la reacción con sustituyentes nucleófilos presentes en
15 anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno, tales como restos amina y tiol. Por ejemplo, los enlazadores adecuados para la síntesis de conjugados fármaco-anticuerpo incluyen, sin limitación, 4-(N-maleimidometil)-ciclohexano-L-carboxilato de succinimidilo (SMCC), yodoacetato de N-succinimidilo (SIA),
20 sulfo-SMCC, éster de *m*-maleimidobenzoyl-*N*-hidroxisuccinimidilo (MBS), sulfo-MBS y yodoacetato de succinimidilo, entre otros descritos, por ejemplo, por Liu et al., 18: 690-697, 1979, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en lo que se refiere a enlazadores para la
25 conjugación química. Los enlazadores adicionales incluyen los enlazadores de maleimidocaproílo no escindibles, que son particularmente útiles para la conjugación de agentes alteradores de microtúbulos tales como auristatinas, descritos por Doronina et al., *Bioconjugate Chem.* 17: 14-24, 2006, cuya
30 divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en lo que se refiere a enlazadores para la

conjugación química. Los enlazadores adicionales adecuados para la síntesis de conjugados fármaco-anticuerpo como se describen en el presente documento incluyen aquellos capaces de liberar una citotoxina mediante un proceso de eliminación

5 1,6 (un grupo "auto-inmolante"), tal como alcohol *p*-aminobencílico (PABC), ácido 6-maleimidohexanoico, carbonatos sensibles al pH y otros reactivos descritos en Jain et al., *Pharm. Res.* 32: 3526-3540, 2015, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad. En

10 algunas realizaciones, el enlazador incluye un grupo auto-inmolante tal como el PAB o el PABC (para-aminobenciloxycarbonilo) mencionados anteriormente, que se desvelan, por ejemplo, en Carl et al., *J. Med. Chem.* (1981) 24: 479-480; Chakravarty et al (1983) *J. Med. Chem.* 26: 638-

15 644; en el documento US 6214345; documento US20030130189; documento US20030096743; documento US6759509; documento US20040052793; documento US6218519; documento US6835807; documento US6268488; documento US20040018194; documento W098/13059; documento US20040052793; documento US6677435;

20 documento US5621002; documento US20040121940; documento W02004/032828). Otros restos químicos de este tipo capaces de este proceso ("enlazadores auto-inmolantes") incluyen carbamatos de metileno y grupos heteroarilo tales como aminotiazoles, aminoimidazoles, aminopirimidinas y similares.

25 Se desvelan enlazadores que contienen dichos grupos auto-inmolantes heterocíclicos, por ejemplo, en las Publicaciones de Patente de los EE.UU. N.º 20160303254 y 20150079114, y la Patente de los EE.UU. N.º 7.754.681; Hay et al. (1999) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 9: 2237; documento US 2005/0256030; de Groot

30 et al (2001) *J. Org. Chem.* 66: 8815-8830; y el documento US 7223837.

Los enlazadores susceptibles a la hidrólisis enzimática pueden ser, por ejemplo, un enlazador que contiene péptidos que se escinde mediante una enzima peptidasa o proteasa intracelular, incluyendo, pero sin limitación, una proteasa endosómica o lisosómica. Una ventaja del uso de la escisión proteolítica intracelular del agente terapéutico es que el agente normalmente se atenúa cuando se conjuga y la estabilidad en suero de los conjugados es normalmente elevada. En algunas realizaciones, el enlazador de peptidilo tiene al menos dos aminoácidos de longitud o al menos tres aminoácidos de longitud. Los enlazadores de aminoácidos de ejemplo incluyen un dipéptido, un tripéptido, un tetrapéptido o un pentapéptido. Los ejemplos de péptidos adecuados incluyen aquellos que contienen aminoácidos tales como Valina, Alanina, Citrulina (Cit), Fenilalanina, Lisina, Leucina y Glicina. Los restos de aminoácidos que comprenden un componente enlazador de aminoácidos incluyen aquellos de origen natural, así como aminoácidos menores y análogos de aminoácidos de origen no natural, tales como citrulina. Los dipéptidos de ejemplo incluyen valina-citrulina (vc o val-cit) y alanina-fenilalanina (af o ala-phe). Los tripéptidos de ejemplo incluyen glicina-valina-citrulina (gly-val-cit) y glicina-glicina-glicina (gly-gly-gly). En algunas realizaciones, el enlazador incluye un dipéptido tal como Val-Cit, Ala-Val o Phe-Lys, Val-Lys, Ala-Lys, Phe-Cit, Leu-Cit, Ile-Cit, Phe-Arg o Trp-Cit. Se desvelan enlazadores que contienen dipéptidos tales como Val-Cit o Phe-Lys, por ejemplo, en la Patente de los EE.UU. N.º 6.214.345, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad en lo que se refiere a enlazadores adecuados para la conjugación covalente. En algunas realizaciones, el enlazador incluye un

dipéptido seleccionado entre Val-Ala y Val-Cit. En algunas realizaciones, se usa un dipéptido en combinación con un enlazador auto-inmolante.

5 Los enlazadores adecuados para su uso en el presente documento pueden incluir adicionalmente uno o más grupos seleccionados entre alquilenos C_1-C_6 , heteroalquilenos C_1-C_6 , alquenilenos C_2-C_6 , heteroalquenilenos C_2-C_6 , alquinilenos C_2-C_6 , heteroalquinilenos C_2-C_6 , cicloalquilenos C_3-C_6 ,
 10 heterocicloalquilenos, arilenos, heteroarilenos y combinaciones de los mismos, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido. Los ejemplos no limitantes de dichos grupos incluyen unidades $(CH_2)_n$, $(CH_2CH_2O)_n$ y $-(C=O)(CH_2)_n-$, en donde n es un número entero de 1 a 6, seleccionadas independientemente
 15 para cada ocasión.

En algunas realizaciones, el enlazador puede incluir uno o más de entre una hidrazina, un disulfuro, un tioéter, un dipéptido, un grupo *p*-aminobencilo (PAB), un grupo auto-
 20 inmolante heterocíclico, un alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, un heteroalquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, un alqueno C_2-C_6 opcionalmente sustituido, un heteroalqueno C_2-C_6 opcionalmente sustituido, un alquino C_2-C_6 opcionalmente sustituido, un heteroalquino C_2-C_6 opcionalmente sustituido,
 25 un cicloalquilo C_3-C_6 opcionalmente sustituido, un heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, un arilo opcionalmente sustituido, un grupo heteroarilo opcionalmente sustituido, acilo, $-(C=O)-$ o un grupo $-(CH_2CH_2O)_n-$, en donde n es un número entero de 1 a 6. Un experto en la materia
 30 reconocerá que uno o más de los grupos enumerados pueden estar presentes en forma de una especie bivalente (di-radical), por

ejemplo, alquilenos C_1 - C_6 y similares.

En algunas realizaciones, el enlazador incluye un grupo p-aminobencilo (PAB). En una realización, el grupo p-aminobencilo se dispone entre el fármaco citotóxico y un sitio de escisión de proteasa en el enlazador. En una realización, el grupo p-aminobencilo es parte de una unidad de p-aminobenciloxycarbonilo. En una realización, el grupo p-aminobencilo es parte de una unidad de p-aminobencilamido.

10

En algunas realizaciones, el enlazador comprende PAB, Val-Cit-PAB, Val-Ala-PAB, Val-Lys(Ac)-PAB, Phe-Lys-PAB, Phe-Lys(Ac)-PAB, D-Val-Leu-Lys, Gly-Gly-Arg, Ala-Ala-Asn-PAB o Ala-PAB.

15

En algunas realizaciones, el enlazador comprende una combinación de uno o más de entre un péptido, oligosacárido, $-(CH_2)_n-$, $-(CH_2CH_2O)_n-$, PAB, Val-Cit-PAB, Val-Ala-PAB, Val-Lys(Ac)-PAB, Phe-Lys-PAB, Phe-Lys(Ac)-PAB, D-Val-Leu-Lys, Gly-Gly-Arg, Ala-Ala-Asn-PAB o Ala-PAB.

20

En algunas realizaciones, el enlazador comprende una unidad $-(C=O)(CH_2)_n-$, en donde n es un número entero de 1 a 6.

En algunas realizaciones, el enlazador comprende una unidad $-(CH_2)_n-$, en donde n es un número entero de 2 a 6.

25

En determinadas realizaciones, el enlazador del ADC es N-beta-maleimidopropil-Val-Ala-para-aminobencilo (BMP-Val-Ala-PAB).

30

Los enlazadores que pueden usarse para conjugar un

anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, con un agente citotóxico incluyen aquellos que se unen covalentemente al agente citotóxico en un extremo del enlazador y, en el otro extremo del enlazador, contienen un resto químico
5 formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en el enlazador y un sustituyente reactivo presente dentro del anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2. Los sustituyentes reactivos que pueden estar presentes en un
10 anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2 incluyen, sin limitación, restos hidroxilo de restos de serina, treonina y tirosina; restos amino de restos de lisina; restos carboxilo de restos de ácido aspártico y ácido glutámico; y restos tiol de restos de cisteína, así como
15 restos propargilo, azido, haloarilo (por ejemplo, fluoroarilo), haloheteroarilo (por ejemplo, fluoroheteroarilo), haloalquilo y haloheteroalquilo de aminoácidos de origen no natural.

20 Los ejemplos de enlazadores útiles para la síntesis de conjugados de fármaco-anticuerpo incluyen aquellos que contienen electrófilos, tales como aceptores de Michael (por ejemplo, maleimidas), ésteres activados, compuestos de carbonilo deficientes en electrones y aldehídos, entre otros,
25 adecuados para la reacción con sustituyentes nucleófilos presentes dentro de anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno, tales como restos amina y tiol. Por ejemplo, los enlazadores adecuados para la síntesis de conjugados fármaco-anticuerpo incluyen, sin limitación, 4-(N-maleimidometil)-
30 ciclohexano-L-carboxilato de succinimidilo (SMCC), yodoacetato de N-succinimidilo (SIA), sulfo-SMCC, éster de *m*-

maleimidobenzoyl-*N*-hidroxisuccinimidilo (MBS), sulfo-MBS y yodoacetato de succinimidilo, entre otros descritos, por ejemplo, por Liu et al., 18: 690-697, 1979, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en lo

5 que se refiere a enlazadores para la conjugación química. Los enlazadores adicionales incluyen los enlazadores de maleimidocaproílo no escindibles, que son particularmente útiles para la conjugación de agentes alteradores de microtúbulos tales como auristatinas, descritos por Doronina

10 et al., *Bioconjugate Chem.* 17: 14-24, 2006, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en lo que se refiere a enlazadores para la conjugación química.

Un experto en la materia reconocerá que uno cualquiera o

15 más de los grupos químicos, restos y características que se desvelan en el presente documento pueden combinarse de múltiples maneras para formar enlazadores útiles para la conjugación de los anticuerpos y citotoxinas como se desvelan en el presente documento. Se describen enlazadores útiles junto

20 con las composiciones y métodos que se describen en el presente documento, por ejemplo, en la Publicación de Solicitud de Patente de los EE.UU. N.º 2015/0218220, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad.

25

Los enlazadores útiles junto con los conjugados anticuerpo-fármaco que se describen en el presente documento incluyen, sin limitación, enlazadores que contienen restos químicos formados por reacciones de acoplamiento como se

30 representa en la Tabla 1, a continuación. Las líneas curvas designan puntos de unión al anticuerpo, o fragmento de unión a

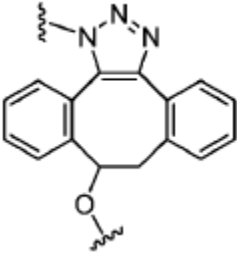
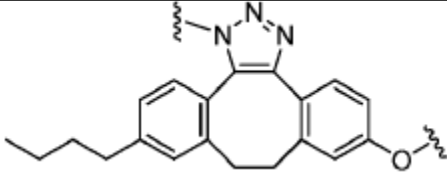
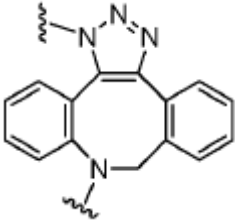
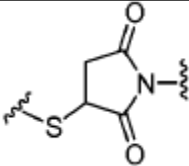
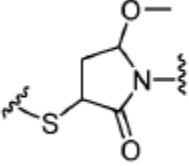
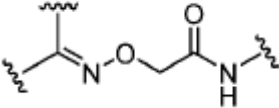
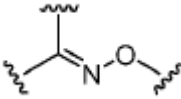
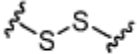
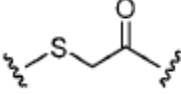
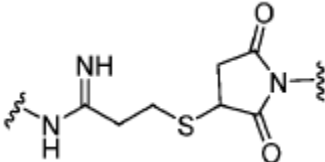
186
antígeno, y la molécula citotóxica, respectivamente.

Tabla 1. Restos químicos de ejemplo formados por reacciones de acoplamiento en la formación de conjugados anticuerpo-fármaco

5

Reacciones de acoplamiento de ejemplo	Resto químico Z formado mediante reacciones de acoplamiento
Cicloadición [3+2]	
Cicloadición [3+2]	
Cicloadición [3+2], Esterificación	
Cicloadición [3+2], Esterificación	
Cicloadición [3+2], Esterificación	
Cicloadición [3+2], Esterificación	

Reacciones de acoplamiento de ejemplo	Resto químico Z formado mediante reacciones de acoplamiento
Cicloadición [3+2], Esterificación	
Cicloadición [3+2], Esterificación	
Cicloadición [3+2], Esterificación	
Cicloadición [3+2], Esterificación	
Cicloadición [3+2], Esterificación	
Cicloadición [3+2], Esterificación	

Reacciones de acoplamiento de ejemplo	Resto químico Z formado mediante reacciones de acoplamiento
Cicloadición [3+2], Esterificación	
Cicloadición [3+2], Eterificación	
Cicloadición [3+2]	
Adición de Michael	
Adición de Michael	
Condensación de imina, Amidación	
Condensación de imina	
Formación de disulfuro	
Alquilación de tiol	
Condensación, adición de Michael	

Un experto en la materia reconocerá que un sustituyente reactivo Z unido al enlazador y un sustituyente reactivo en el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, participan en la reacción de acoplamiento covalente para producir el resto químico Z, y reconocerá el sustituyente reactivo Z. Por tanto, pueden formarse conjugados anticuerpo-fármaco útiles junto con los métodos que se describen en el presente documento mediante la reacción de un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, con un enlazador o conjugado citotoxina-enlazador, como se describe en el presente documento, incluyendo el enlazador o conjugado citotoxina-enlazador un sustituyente reactivo Z, adecuado para la reacción con un sustituyente reactivo en el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, para formar el resto químico Z.

Como se representa en la Tabla 3, los ejemplos de sustituyentes adecuadamente reactivos en el enlazador y el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, incluyen un par nucleófilo/electrófilo (por ejemplo, un par tiol/haloalquilo, un par amina/carbonilo o un par tiol/carbonilo α,β -insaturado y similares), un par dieno/dienófilo (por ejemplo, un par azida/alquino o un par dieno/ α,β -insaturado, entre otros) y similares. Las reacciones de acoplamiento entre los sustituyentes reactivos para formar el resto químico Z incluyen, sin limitación, alquilación de tiol, alquilación de hidroxilo, alquilación de amina, condensación de amina o hidroxilamina, formación de hidrazina, amidación, esterificación, formación de disulfuro, cicloadición (por ejemplo, cicloadición de Diels-Alder [4+2], cicloadición de Huisgen [3+2], entre otros), sustitución

aromática nucleófila, sustitución aromática electrófila y otras modalidades reactivas conocidas en la técnica o que se describen en el presente documento. Preferentemente, el enlazador contiene un grupo funcional electrófilo para su
5 reacción con un grupo funcional nucleófilo en el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.

Los sustituyentes reactivos que pueden estar presentes dentro de un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del
10 mismo, como se desvela en el presente documento incluyen, sin limitación, grupos nucleófilos tales como (i) grupos amina N-terminales, (ii) grupos amina de cadena lateral, por ejemplo, lisina, (iii) grupos tiol de cadena lateral, por ejemplo, cisteína y (iv) grupos hidroxilo o amino de azúcar en los que
15 el anticuerpo está glicosilado. Los sustituyentes reactivos que pueden estar presentes dentro de un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, como se desvelan en el presente documento incluyen, sin limitación, restos hidroxilo de restos de serina, treonina y tirosina; restos amino de restos de
20 lisina; restos carboxilo de restos de ácido aspártico y ácido glutámico; y restos tiol de restos de cisteína, así como restos propargilo, azido, haloarilo (por ejemplo, fluoroarilo), haloheteroarilo (por ejemplo, fluoroheteroarilo), haloalquilo y haloheteroalquilo de aminoácidos de origen no natural. En
25 algunas realizaciones, los sustituyentes reactivos presentes dentro de un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, como se desvela en el presente documento, son restos amina o tiol. Determinados anticuerpos tienen disulfuros entre cadenas reducibles, es decir, puentes de cisteína. Los
30 anticuerpos pueden hacerse reactivos para la conjugación con reactivos enlazadores mediante tratamiento con un agente

reductor, tal como DTT (ditiotreititol). Por tanto, cada puente de cisteína formará, teóricamente, dos nucleófilos de tiol reactivos. Los grupos nucleófilos adicionales pueden introducirse en anticuerpos a través de la reacción de lisinas con 2-iminotiolano (reactivo de Traut) dando como resultado la conversión de una amina en un tiol. Pueden introducirse grupos tiol reactivos en el anticuerpo (o fragmento del mismo) introduciendo uno, dos, tres, cuatro o más restos de cisteína (por ejemplo, preparando anticuerpos mutantes que comprenden uno o más restos de aminoácidos de cisteína no nativos). La Patente de los EE.UU. N.º 7.521.541 enseña la modificación por ingeniería genética de anticuerpos mediante la introducción de aminoácidos de cisteína reactivos.

En algunas realizaciones, el resto reactivo Z unido al enlazador es un grupo nucleófilo que es reactivo con un grupo electrófilo presente en un anticuerpo. Los grupos electrófilos útiles en un anticuerpo incluyen, pero sin limitación, grupos carbonilo de aldehído y cetona. El heteroátomo de un grupo nucleófilo puede reaccionar con un grupo electrófilo en un anticuerpo y formar un enlace covalente al anticuerpo. Los grupos nucleófilos útiles incluyen, pero sin limitación, hidrazida, oxima, amino, hidroxilo, hidrazina, tiosemicarbazona, carboxilato de hidrazina y arilhidrazida.

En algunas realizaciones, Z es el producto de una reacción entre sustituyentes nucleófilos reactivos presentes dentro de los anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, tales como restos amina y tiol, y un sustituyente electrófilo reactivo Z. Por ejemplo, Z puede ser un aceptor de Michael (por ejemplo, maleimida), éster activado, compuesto de

carbonilo deficiente en electrones, o un aldehído, entre otros.

En algunas realizaciones, el ADC comprende un anticuerpo anti-CD2 conjugado con una amatoxina de una de las fórmulas **I**,

5 IA, IB, II, IIA o IIB como se desvela en el presente documento a través de un enlazador y un resto químico Z. En algunas realizaciones, el enlazador incluye un dipéptido. En algunas realizaciones, el enlazador incluye un dipéptido seleccionado entre Val-Ala y Val-Cit. En algunas realizaciones, el enlazador

10 incluye un grupo para-aminobencilo (PAB). En algunas realizaciones, el enlazador incluye el resto PAB-Cit-Val. En algunas realizaciones, el enlazador incluye el resto PAB-Ala-Val. En algunas realizaciones, el enlazador incluye una unidad $-(\text{C=O})(\text{CH}_2)_n-$, en donde n es un número entero de 1 a 6. En

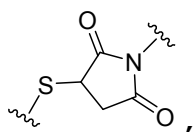
15 algunas realizaciones, el enlazador es $-\text{PAB-Cit-Val}-(\text{C=O})(\text{CH}_2)_n-$.

En algunas realizaciones, el enlazador incluye una unidad $-(\text{CH}_2)_n-$, donde n es un número entero de 2 a 6. En algunas

20 realizaciones, el enlazador es $-\text{PAB-Cit-Val}-(\text{C=O})(\text{CH}_2)_n-$. En algunas realizaciones, el enlazador es $-\text{PAB-Ala-Val}-(\text{C=O})(\text{CH}_2)_n-$. En algunas realizaciones, el enlazador es $-(\text{CH}_2)_n-$. En algunas realizaciones, el enlazador es $-(\text{CH}_2)_n-$, en donde n es 6.

25

En algunas realizaciones, el resto químico Z se selecciona de la Tabla 1. En algunas realizaciones, el resto químico Z es

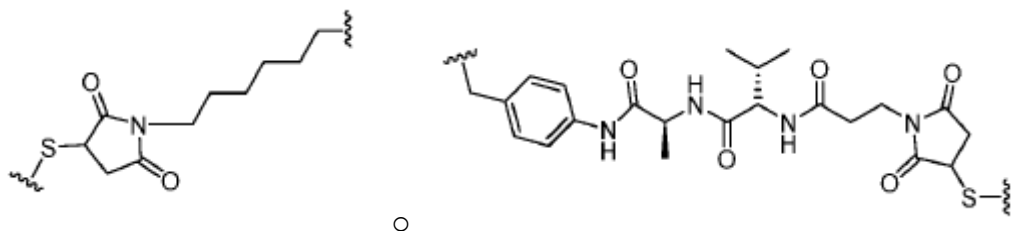


donde S es un átomo de azufre que representa el

30 sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo, o

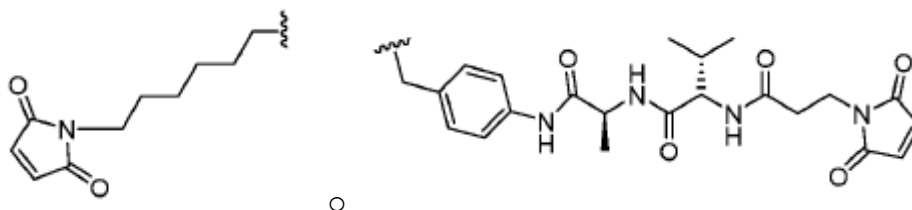
fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2 (por ejemplo, del grupo -SH de un resto de cisteína).

En algunas realizaciones, el enlazador L y el resto
5 químico Z, tomados juntos como L-Z, es



Un experto en la materia reconocerá que la estructura del grupo sustituyente reactivo al enlazador, antes de la conjugación con el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno
10 del mismo, incluye una maleimida como el grupo Z. Los restos enlazadores anteriores y conjugados amatoxina-enlazador, entre otros útiles junto con las composiciones y métodos que se describen en el presente documento, se describen, por ejemplo, en la Publicación de Solicitud de Patente de los EE.UU.
15 N.º 2015/0218220 y la Publicación de Solicitud de Patente N.º WO2017/149077, cuya divulgación se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad.

En algunas realizaciones, la estructura del grupo
20 sustituyente reactivo al enlazador, antes de la conjugación con el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, es:



Preparación de conjugados anticuerpo-fármaco

25 En los ADC de fórmula I como se desvelan en el presente documento, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del

mismo se conjuga con uno o más restos de fármaco citotóxico (D), por ejemplo, de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 restos de fármaco por anticuerpo, a través de un enlazador L y un resto químico Z como se desvela en el presente documento.

5 Los ADC de la presente divulgación pueden prepararse por varias vías, empleando reacciones, condiciones y reactivos de química orgánica conocidos por los expertos en la materia, incluyendo:

(1) reacción de un sustituyente reactivo de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo con un reactivo

10 enlazador bivalente para formar Ab-Z-L como se ha descrito anteriormente en el presente documento, seguida de reacción con un resto de fármaco D; o (2) reacción de un sustituyente reactivo de un resto de fármaco con un reactivo enlazador bivalente para formar D-L-Z, seguido de reacción con un

15 sustituyente reactivo de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo como se ha descrito anteriormente en el presente documento para formar un ADC de fórmula D-L-Z-Ab, tal como Am-Z-L-Ab. En el presente documento se describen métodos adicionales para preparar ADC.

20

En otro aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo tiene uno o más restos de lisina que pueden modificarse químicamente para introducir uno o más grupos sulfhidrilo. Después, el ADC se forma mediante conjugación a

25 través del átomo de azufre del grupo sulfhidrilo como se ha descrito anteriormente en el presente documento. Los reactivos que pueden usarse para modificar la lisina incluyen, pero sin limitación, S-acetiltioacetato de N-succinimidilo (SATA) y clorhidrato de 2-lminotiolano (reactivo de Traut).

30

En otro aspecto, el anticuerpo o el fragmento de unión a

antígeno del mismo puede tener uno o más grupos carbohidrato que pueden modificarse químicamente para que tengan uno o más grupos sulfhidrilo. Después, el ADC se forma mediante conjugación a través del átomo de azufre del grupo sulfhidrilo como se ha descrito anteriormente en el presente documento.

En otro aspecto más, el anticuerpo puede tener uno o más grupos de hidratos de carbono que pueden oxidarse para proporcionar un grupo aldehído (-CHO) (véase, por ejemplo, Laguzza, et al., *J. Med. Chem.* 1989, 32 (3), 548-55). Después, el ADC se forma mediante conjugación a través del aldehído correspondiente como se ha descrito anteriormente en el presente documento. Se describen otros protocolos para la modificación de proteínas para la unión o asociación de citotoxinas en Coligan et al., *Current Protocols in Protein Science*, vol. 2, John Wiley & Sons (2002), incorporado en el presente documento como referencia.

Se encuentran métodos para la conjugación de restos enlazador-fármaco con proteínas dirigidas a células tales como anticuerpos, inmunoglobulinas o fragmentos de los mismos, por ejemplo, en la Patente de los EE.UU. N.º 5.208.020; la Patente de los EE. UU. N.º 6.441.163; documento WO2005037992; documento WO2005081711; y documento WO2006/034488, todos los cuales se incorporan expresamente por la presente como referencia en su totalidad.

Como alternativa, puede prepararse una proteína de fusión que comprende el anticuerpo y el agente citotóxico, por ejemplo, mediante técnicas recombinantes o síntesis de péptidos. La longitud del ADN puede comprender regiones

respectivas que codifican las dos porciones del conjugado, ya se encuentren adyacentes entre sí o separadas por una región que codifica un péptido enlazador que no destruye las propiedades deseadas del conjugado.

5

Métodos de tratamiento

Como se describe en el presente documento, la terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas puede administrarse a un sujeto que necesite tratamiento para poblar o repoblar uno o más tipos celulares sanguíneos. Las células madre hematopoyéticas generalmente presentan multipotencia y, por tanto, pueden diferenciarse en múltiples linajes sanguíneos diferentes, incluyendo, pero sin limitación, granulocitos (por ejemplo, promielocitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos), eritrocitos (por ejemplo, reticulocitos, eritrocitos), trombocitos (por ejemplo, megacarioblastos, megacariocitos productores de plaquetas, plaquetas), monocitos (por ejemplo, monocitos, macrófagos), células dendríticas, microglía, osteoclastos y linfocitos (por ejemplo, linfocitos NK, linfocitos B y linfocitos T). Además, las células madre hematopoyéticas son capaces de autorrenovarse y por tanto, pueden originar células hijas que tengan un potencial equivalente al de la célula madre y también muestran la capacidad de reintroducirse en un receptor de trasplante, tras lo cual se alojan en el nicho de células madre hematopoyéticas y restablecen la hematopoyesis productiva y sostenida.

Por tanto, las células madre hematopoyéticas pueden administrarse a un paciente que tiene un defecto o una deficiencia en uno o más tipos celulares del linaje hematopoyético para reconstituir la población defectuosa o

deficiente de células *in vivo*, tratando de este modo la patología asociada al defecto o el agotamiento en la población de células sanguíneas endógenas. Las composiciones y los métodos que se describen en el presente documento pueden usarse para tratar una hemoglobinopatía no maligna (por ejemplo, una hemoglobinopatía seleccionada entre el grupo que consiste en anemia falciforme, talasemia, anemia de Fanconi, anemia aplásica y síndrome de Wiskott-Aldrich). Adicionalmente, o como alternativa, las composiciones y métodos que se describen en el presente documento pueden usarse para tratar una inmunodeficiencia, tal como una inmunodeficiencia congénita. Adicionalmente, o como alternativa, las composiciones y métodos que se describen en el presente documento pueden usarse para tratar una inmunodeficiencia adquirida (por ejemplo, una inmunodeficiencia adquirida seleccionada entre el grupo que consiste en VIH y SIDA). Las composiciones y métodos que se describen en el presente documento pueden usarse para tratar un trastorno metabólico (por ejemplo, un trastorno metabólico seleccionado entre el grupo que consiste en enfermedades de almacenamiento de glucógeno, mucopolisacaridosis, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Hurler, esfingolipidosis y leucodistrofia metacromática).

Adicionalmente, o como alternativa, las composiciones y métodos que se describen en el presente documento pueden usarse para tratar un trastorno maligno o proliferativo, tal como un cáncer hemático, enfermedad mieloproliferativa. En el caso del tratamiento del cáncer, las composiciones y métodos descritos en este documento pueden administrarse a un paciente antes de la terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas para agotar una población de células inmunitarias que reaccionan de

forma cruzada y generan una respuesta inmunitaria contra células madre hematopoyéticas no propias. Esto sirve para prevenir o reducir la probabilidad de rechazo de los injertos de células madre hematopoyéticas trasplantadas, permitiendo

5 que las células madre hematopoyéticas trasplantadas alberguen un nicho de células madre y establezcan una hematopoyesis productiva. Esto, a su vez, puede reconstituir una población de células agotadas durante la erradicación de células cancerosas, tal como durante la quimioterapia sistémica. Los

10 cánceres hemáticos de ejemplo que pueden tratarse usando las composiciones y métodos que se describen en el presente documento incluyen, sin limitación, leucemia mieloide aguda, leucemia linfoide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoide crónica, mieloma múltiple, linfoma difuso de

15 linfocitos B grandes y linfoma no Hodgkin, así como otras afecciones cancerosas, incluyendo el neuroblastoma.

Las enfermedades adicionales que pueden tratarse con las composiciones y métodos que se describen en el presente

20 documento incluyen, sin limitación, deficiencia de adenosina desaminasa e inmunodeficiencia combinada grave, síndrome de hiperinmunoglobulina M, enfermedad de Chediak-Higashi, linfohistiocitosis hereditaria, osteopetrosis, osteogénesis imperfecta, enfermedades de almacenamiento, talasemia mayor,

25 esclerosis sistémica, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple y artritis reumatoide juvenil.

Los anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, y los conjugados que se describen en el presente

30 documento pueden usarse para inducir tolerancia al trasplante de órganos sólidos. Por ejemplo, las composiciones y métodos

que se describen en el presente documento pueden usarse para agotar o eliminar una población de células inmunitarias antes del trasplante de células madre hematopoyéticas. Después de dicho agotamiento de células de los tejidos diana, puede

5 administrarse una población de células madre o progenitoras de un donante de órganos (por ejemplo, células madre hematopoyéticas del donante de órganos) al receptor del trasplante y, después del injerto de dichas células madre o progenitoras, puede conseguirse un quimerismo mixto temporal o

10 estable, lo que permite la tolerancia a los órganos de trasplante a largo plazo sin la necesidad de agentes inmunosupresores adicionales. La probabilidad de rechazo del injerto trasplantado puede reducirse, o el rechazo puede evitarse por completo, mediante la administración del

15 anticuerpo anti-CD2, o un fragmento de unión a antígeno del mismo. De esta manera, las composiciones y métodos que se describen en el presente documento pueden usarse para inducir tolerancia al trasplante en un receptor de trasplante de órgano sólido (por ejemplo, un trasplante de riñón, trasplante de

20 pulmón, trasplante de hígado y trasplante de corazón, entre otros). Las composiciones y métodos que se describen en el presente documento son adecuados para su uso con respecto a la inducción de la tolerancia al trasplante de órganos sólidos, por ejemplo, porque un porcentaje bajo de injerto de donante

25 temporal o estable es suficiente para inducir tolerancia a largo plazo del órgano trasplantado.

Además, las composiciones y métodos que se describen en el presente documento pueden usarse para tratar cánceres

30 directamente, tales como cánceres caracterizados por células que son CD2+. Por ejemplo, las composiciones y métodos que se

describen en el presente documento pueden usarse para tratar la leucemia, en particular en pacientes que presentan células leucémicas CD2+. Mediante el agotamiento de las células cancerosas CD2+, tales como las células leucémicas, las composiciones y los métodos que se describen en el presente documento pueden usarse para tratar diversos cánceres directamente. Los cánceres de ejemplo que pueden tratarse de esta manera incluyen cánceres hemáticos, tales como leucemia mielóide aguda, leucemia linfóide aguda, leucemia mielóide crónica, leucemia linfóide crónica, mieloma múltiple, linfoma difuso de linfocitos B grandes y linfoma no Hodgkin,

Además, las composiciones y métodos que se describen en el presente documento pueden usarse para tratar trastornos autoinmunitarios. Por ejemplo, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, puede administrarse a un sujeto, tal como un paciente humano que padece un trastorno autoinmunitario, para destruir una célula inmunitaria CD2+. La célula inmunitaria CD2+ puede ser un linfocito autorreactivo, tal como un linfocito T que expresa un receptor de linfocitos T que se une específicamente y genera una respuesta inmunitaria contra un antígeno propio. Mediante el agotamiento de las células CD2+ autorreactivas, las composiciones y métodos que se describen en el presente documento pueden usarse para tratar patologías autoinmunitarias, tales como las que se describen a continuación. Adicionalmente, o como alternativa, las composiciones y métodos que se describen en el presente documento pueden usarse para tratar una enfermedad autoinmunitaria agotando una población de células madre hematopoyéticas endógenas antes de la terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas, en cuyo caso las células

trasplantadas pueden albergar un nicho creado por la etapa de agotamiento de células endógenas y establecer una hematopoyesis productiva. Esto, a su vez, puede reconstituir una población de células agotadas durante la erradicación de células autoinmunitarias.

Las enfermedades autoinmunitarias que pueden tratarse usando las composiciones y métodos que se describen en el presente documento incluyen, sin limitación, psoriasis, artritis psoriásica, diabetes mellitus de tipo 1 (diabetes de tipo 1), artritis reumatoide (AR), lupus sistémico humano (LES), esclerosis múltiple (EM), enfermedad inflamatoria intestinal (EII), colitis linfocítica, encefalomiелitis aguda diseminada (EMDA), enfermedad de Addison, alopecia universal, espondilitis anquilosante, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos (SAF), anemia aplásica, anemia hemolítica autoinmunitaria, hepatitis autoinmunitaria, enfermedad autoinmunitaria del oído interno (EAOI), síndrome linfoproliferativo autoinmunitario (SLPA), ooforitis autoinmunitaria, enfermedad de Balo, enfermedad de Behcet, penfigoide ampolloso, cardiomiopatía, enfermedad de Chagas, síndrome de disfunción inmunitaria por fatiga crónica (SDIFC), polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, enfermedad de Crohn, penfigoide cicatricial, dermatitis herpética celiaca, enfermedad de crioaglutinina, síndrome CREST, enfermedad de Degos, lupus discoide, disautonomía, endometriosis, crioglobulinemia mixta esencial, fibromialgia-fibromiositis, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barré (SGB), tiroiditis de Hashimoto, hidradenitis supurativa, púrpura trombocitopénica idiopática y/o aguda, fibrosis pulmonar idiopática, neuropatía por IgA,

cistitis intersticial, artritis juvenil, enfermedad de Kawasaki, liquen plano, enfermedad de Lyme, enfermedad de Meniere, enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC), miastenia grave, neuromiotonía, síndrome de opsoclono mioclónico (SOM), neuritis óptica, tiroiditis de Ord, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, policondritis, polimiositis y dermatomiositis, cirrosis biliar primaria, poliarteritis nodosa, síndromes poliglandulares, polimialgia reumática, agammaglobulinemia primaria, fenómeno de Raynaud, síndrome de Reiter, fiebre reumática, sarcoidosis, esclerodermia, síndrome de Sjögren, síndrome de persona rígida, arteritis de Takayasu, arteritis temporal (también conocida como "arteritis de células gigantes"), colitis ulcerosa, colitis colagenosa, uveítis, vasculitis, vitíligo, vulvodinia ("vestibulitis vulvar") y granulomatosis de Wegener.

Por ejemplo, usando las composiciones y métodos que se describen en el presente documento, un experto en la materia puede administrar a un sujeto que padece un trastorno autoinmunitario un anticuerpo anti-CD2, o fragmento de unión a antígeno del mismo, en una cantidad suficiente para tratar la patología autoinmunitaria. Por ejemplo, el sujeto puede estar padeciendo esclerodermia, esclerosis múltiple, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn y/o diabetes de tipo 1. Para mejorar una o más de estas afecciones, un médico experto en la materia puede prescribir y administrar al sujeto un anticuerpo anti-CD2, o fragmento del mismo, tal como un anticuerpo, o fragmento del mismo, que está unido a un agente citotóxico. El anticuerpo, o fragmento del mismo, puede conjugarse con un agente citotóxico usando técnicas de conjugación y enlazadores detallados anteriormente. Puede conjugarse una diversidad de

agentes citotóxicos con un anticuerpo anti-CD2, o fragmento de unión a antígeno del mismo, con el fin de agotar una población de linfocitos T o linfocitos NK CD2+ endógenos y autorreactivos en un sujeto. Por ejemplo, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, puede conjugarse con una amatoxina u otro resto de citotoxina que se describe en el presente documento.

En preparación para la terapia, el médico puede evaluar la cantidad o concentración de linfocitos T y/o linfocitos NK autorreactivos en una muestra aislada de un sujeto. Esto puede hacerse, por ejemplo, usando técnicas de análisis por FACS conocidas en la técnica. Un experto en la materia puede administrar entonces al sujeto un anticuerpo, o fragmento del mismo, solo o conjugado con una citotoxina, para agotar la población de linfocitos T y/o linfocitos NK autorreactivos. Para evaluar la eficacia de la terapia, el médico puede determinar la cantidad o concentración de linfocitos T y/o linfocitos NK autorreactivos en una muestra aislada del paciente en un momento posterior a la administración del anticuerpo anti-CD2, o fragmento del mismo. Una determinación de que la cantidad o concentración de linfocitos T y/o linfocitos NK autorreactivos en una muestra aislada del sujeto después de la terapia con respecto a la cantidad o concentración de linfocitos T o linfocitos NK antes de la terapia proporciona un indicativo de que el paciente está respondiendo al anticuerpo anti-CD2, o fragmento del mismo.

Los conjugados de anticuerpo-fármaco que comprenden anticuerpos anti-CD2, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, también pueden usarse en combinación con la terapia con CAR T. Específicamente, puede administrarse una cantidad

eficaz de un conjugado de anticuerpo anti-CD2-fármaco a un paciente que lo necesite antes del tratamiento con CAR T con el fin de agotar los linfocitos T nativos. El agotamiento de linfocitos T nativos que expresan CD2 usando los métodos y composiciones que se describen en el presente documento puede proporcionar una transferencia más eficaz de linfocitos T modificados por ingeniería genética utilizados en la terapia con CAR T.

10 Vías de administración y dosificación

Los anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se describen en el presente documento pueden administrarse a un paciente (por ejemplo, un paciente humano que necesite terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas) en una diversidad de formas farmacéuticas. Por ejemplo, los anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se describen en el presente documento, pueden administrarse a un paciente que necesite terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas y/o que padece cáncer o una enfermedad autoinmunitaria en forma de una solución acuosa, tal como una solución acuosa que contiene uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Los excipientes farmacéuticamente aceptables de ejemplo para su uso con las composiciones y métodos que se describen en el presente documento son agentes modificadores de la viscosidad. La solución acuosa puede esterilizarse usando técnicas conocidas en la especialidad.

Los anticuerpos, y fragmentos de unión a antígeno, que se describen en el presente documento, pueden administrarse mediante una diversidad de vías, tales como por vía oral,

transdérmica, subcutánea, intranasal, intravenosa, intramuscular, intraocular o parenteral. La vía más adecuada para la administración en cualquier caso dependerá del anticuerpo particular o fragmento de unión a antígeno administrado, el paciente, los métodos de formulación farmacéutica, los métodos de administración (por ejemplo, el tiempo de administración y la vía de administración), la edad del paciente, el peso corporal, el sexo, la gravedad de las enfermedades que se tratan, la dieta del paciente y la tasa de excreción del paciente.

La dosis eficaz de un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, descrito en el presente documento puede variar, por ejemplo, de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por administración individual (por ejemplo, embolada), administraciones múltiples o administración continua, o para lograr una concentración sérica óptima (por ejemplo, una concentración sérica de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 5000 µg/ml) del anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo. La dosis puede administrarse una o más veces (por ejemplo, aproximadamente 2-10 veces) por día, semana o mes a un sujeto (por ejemplo, un ser humano) sometido a terapia de acondicionamiento en la preparación para recibir un trasplante de células madre hematopoyéticas. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede administrarse al paciente en un momento que promueva de forma óptima el injerto de las células madre hematopoyéticas exógenas, por ejemplo, en un momento que agote de forma óptima los linfocitos T o linfocitos NK CD2+ que reaccionan de forma cruzada con un antígeno de células madre hematopoyéticas no propias (por ejemplo, un

antígeno de MHC no propio expresado por células madre hematopoyéticas) antes del trasplante de células madre hematopoyéticas. Por ejemplo, pueden administrarse anticuerpos anti-CD2, y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, a un

5 paciente sometido a terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 1 semana (por ejemplo, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 3 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 5 horas, aproximadamente 6 horas,

10 aproximadamente 7 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 9 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 11 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 13 horas, aproximadamente 14 horas, aproximadamente 15 horas, aproximadamente 16 horas,

15 aproximadamente 17 horas, aproximadamente 18 horas, aproximadamente 19 horas, 20 horas, aproximadamente 21 horas, aproximadamente 22 horas, aproximadamente 23 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 2 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 4 días,

20 aproximadamente 5 días, aproximadamente 6 días o aproximadamente 7 días; o aproximadamente de 1 a 3 días; aproximadamente de 1 a 4 días; aproximadamente de 12 horas a 3 días) o más antes de la administración del trasplante de células madre hematopoyéticas exógenas. La semivida del

25 anticuerpo puede estar entre aproximadamente 1 hora y aproximadamente 24 horas (por ejemplo, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 3 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 5 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 7 horas,

30 aproximadamente 8 horas, aproximadamente 9 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 11 horas,

aproximadamente 12 horas, aproximadamente 13 horas,
aproximadamente 14 horas, aproximadamente 15 horas,
aproximadamente 16 horas, aproximadamente 17 horas,
aproximadamente 18 horas, aproximadamente 19 horas,
5 aproximadamente 20 horas, aproximadamente 21 horas,
aproximadamente 22 horas, aproximadamente 23 horas o
aproximadamente 24 horas).

En una realización, un anticuerpo anti-CD2 (o fragmento
10 que contiene Fc del mismo) tiene una vida útil reducida (en
comparación con una región Fc de tipo silvestre) donde la
región Fc del anticuerpo comprende una mutación H435A
(numeración de acuerdo con el índice EU).

15 De acuerdo con los métodos que se desvelan en el presente
documento, un médico experto en la materia puede acondicionar
un paciente, tal como un paciente humano, para promover el
injerto de injertos de células madre hematopoyéticas exógenas
antes de la terapia de trasplante de células madre
20 hematopoyéticas. Con este fin, un médico experto en la materia
puede administrar al paciente humano un anticuerpo, o fragmento
de unión a antígeno del mismo, capaz de unirse a CD2, tal como
un anticuerpo anti-CD2 que se describe en el presente
documento. El anticuerpo, o fragmento del mismo, puede
25 conjugarse covalentemente con una toxina, tal como una molécula
citotóxica que se describe en el presente documento o conocida
en la técnica, o un dominio Fc. Por ejemplo, un anticuerpo
anti-CD2, o fragmento de unión a antígeno del mismo, puede
conjugarse covalentemente con una citotoxina, tal como
30 exotoxina A de *Pseudomonas*, deBouganina, toxina diftérica, una
amatoxina, tal como α -amanitina, saporina, maitansina, un

maitansinoide, una auristatina, una antraciclina, una caliqueamicina, irinotecán, SN-38, una duocarmicina, un pirrolobenzodiacepina, un dímero de pirrolobenzodiacepina, una indolinobenzodiacepina, un dímero de indolinobenzodiacepina, o una variante de los mismos. Esta conjugación puede realizarse usando técnicas de formación de enlaces covalentes que se describen en el presente documento o conocidas en la técnica. El anticuerpo, fragmento de unión a antígeno del mismo, o conjugado anticuerpo-fármaco, puede administrarse posteriormente al paciente, por ejemplo, por administración intravenosa, antes del trasplante de células madre hematopoyéticas exógenas (tales como células madre hematopoyéticas autógenas, singénicas o alogénicas) al paciente.

El anticuerpo anti-CD2, fragmento de unión al antígeno del mismo o conjugado anticuerpo-fármaco, puede administrarse en una cantidad suficiente para reducir la cantidad de linfocitos T endógenos, tales como linfocitos T residentes en la médula ósea, por ejemplo, en aproximadamente un 10 %, aproximadamente un 20 %, aproximadamente un 30 %, aproximadamente un 40 %, aproximadamente un 50 %, aproximadamente un 60 %, aproximadamente un 70 %, aproximadamente un 80 %, aproximadamente un 90 %, aproximadamente un 95 %, aproximadamente un 10 % a un 90 %, aproximadamente un 10 % a un 70 %, aproximadamente un 10 % a un 60 %, o más antes de la terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas. La reducción en el recuento de linfocitos T puede controlarse usando técnicas convencionales conocidas en la técnica, tales como análisis por FACS de células que expresan antígenos de superficie de linfocitos T característicos en una muestra de sangre extraída del paciente

a intervalos variables durante la terapia de acondicionamiento. Por ejemplo, un médico experto en la materia puede extraer una muestra de médula ósea del paciente en diversos puntos temporales durante la terapia de acondicionamiento y determinar el alcance de la reducción de linfocitos T endógenos realizando un análisis por FACS para dilucidar las concentraciones relativas de linfocitos T en la muestra usando anticuerpos que se unen a los antígenos marcadores de linfocitos T. De acuerdo con algunas realizaciones, cuando la concentración de linfocitos T ha alcanzado un valor mínimo en respuesta a la terapia de acondicionamiento con un anticuerpo anti-CD2, un fragmento de unión a antígeno del mismo, o conjugado anticuerpo-fármaco, el médico puede concluir la terapia de acondicionamiento y puede comenzar a preparar al paciente para la terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas.

El anticuerpo anti-CD2, fragmento de unión a antígeno del mismo, o conjugado anticuerpo-fármaco, pueden administrarse al paciente en una solución acuosa que contiene uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, tal como un agente modificador de la viscosidad. La solución acuosa puede esterilizarse usando técnicas que se describen en el presente documento o conocidas en la técnica. El anticuerpo, fragmento de unión a antígeno del mismo, o conjugado anticuerpo-fármaco, pueden administrarse al paciente a una dosis de, por ejemplo, de aproximadamente 0,001 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg antes de la administración de un injerto de células madre hematopoyéticas al paciente. El anticuerpo, fragmento de unión a antígeno del mismo, o conjugado anticuerpo-fármaco, pueden administrarse al paciente en un momento que promueva de forma óptima el injerto de las células madre hematopoyéticas

exógenas, por ejemplo, de aproximadamente 1 hora a aproximadamente 1 semana (por ejemplo, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 3 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 5 horas, 5 aproximadamente 6 horas, aproximadamente 7 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 9 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 11 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 13 horas, aproximadamente 14 horas, aproximadamente 15 horas, 10 aproximadamente 16 horas, aproximadamente 17 horas, aproximadamente 18 horas, aproximadamente 19 horas, aproximadamente 20 horas, aproximadamente 21 horas, aproximadamente 22 horas, aproximadamente 23 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 2 días, 15 aproximadamente 3 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 6 días o aproximadamente 7 días) o más antes de la administración del trasplante de células madre hematopoyéticas exógenas.

20 Después de la conclusión de la terapia de acondicionamiento, el paciente puede recibir una infusión (por ejemplo, una infusión intravenosa) de células madre hematopoyéticas exógenas, tal como del mismo médico que realizó la terapia de acondicionamiento o de un médico diferente. El 25 médico puede administrar al paciente una infusión de células madre hematopoyéticas autólogas, singénicas o alogénicas, por ejemplo, a una dosis de aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^9 células madre hematopoyéticas/kg. El médico puede controlar el injerto del trasplante de células 30 madre hematopoyéticas, por ejemplo, extrayendo una muestra de sangre del paciente y determinando el aumento de la

concentración de células madre hematopoyéticas o células del linaje hematopoyético (tal como megacariocitos, trombocitos, plaquetas, eritrocitos, mastocitos, mioblastos, basófilos, neutrófilos, eosinófilos, microglía, granulocitos, monocitos, osteoclastos, células presentadoras de antígenos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos citolíticos naturales, linfocitos T y linfocitos B) después de la administración del trasplante. Este análisis puede realizarse, por ejemplo, de 1 hora a 6 meses, o más, después de la terapia de trasplante de células madre hematopoyéticas (por ejemplo, aproximadamente 1 hora, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 3 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 5 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 7 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 9 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 11 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 13 horas, aproximadamente 14 horas, aproximadamente 15 horas, aproximadamente 16 horas, aproximadamente 17 horas, aproximadamente 18 horas, aproximadamente 19 horas, aproximadamente 20 horas, aproximadamente 21 horas, aproximadamente 22 horas, aproximadamente 23 horas, aproximadamente 24 horas, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12 semanas, 13 semanas, 14 semanas, 15 semanas, aproximadamente 16 semanas, 17 semanas, 18 semanas, 19 semanas, 20 semanas, 21 semanas, 22 semanas, 23 semanas, 24 semanas o más). Un hallazgo de que la concentración de células madre hematopoyéticas o células del linaje hematopoyético ha aumentado (por ejemplo, aproximadamente el 1 %, aproximadamente el 2 %, aproximadamente el 3 %,

aproximadamente el 4 %, aproximadamente el 5 %,
aproximadamente el 6 %, aproximadamente el 7 %,
aproximadamente el 8 %, aproximadamente el 9 %,
aproximadamente el 10 %, aproximadamente el 20 %,
5 aproximadamente el 30 %, aproximadamente el 40 %,
aproximadamente el 50 %, aproximadamente el 60 %,
aproximadamente el 70 %, aproximadamente el 80 %,
aproximadamente el 90 %, aproximadamente el 100 %,
aproximadamente el 200 %, aproximadamente el 500 % o más)
10 después de la terapia de trasplante con respecto a la
concentración del tipo celular correspondiente antes de la
terapia de trasplante proporciona un indicativo de que el
tratamiento con el anticuerpo anti-CD2, fragmento de unión a
antígeno del mismo, conjugado anticuerpo-fármaco, promovió
15 satisfactoriamente el injerto del injerto de células madre
hematopoyéticas trasplantadas.

Ejemplos

20 Los siguientes ejemplos se presentan para proporcionar a
los expertos en la materia una divulgación de cómo las
composiciones y métodos que se describen en el presente
documento pueden usarse, prepararse y evaluarse, y tienen por
objeto ser puramente de ejemplo de la invención y no tienen
25 por objeto limitar el alcance de lo que los inventores
consideran su invención.

Ejemplo 1: Análisis de unión in vitro de anticuerpos anti-CD2.

30 Para determinar las características de unión de
anticuerpos anti-CD2 RPA-2.10 mIgG1 y Ab1 hIgG1, se realizaron
estudios de unión a anticuerpos a 25 grados Celsius en 1x PBS

complementado con albúmina sérica bovina al 0,1 % p/v con un Pall ForteBio Octet Red96 usando interferometría de biocapa (BLI, por sus siglas en inglés). El anticuerpo purificado indicado humano (Ab1-hIgG1) o murino (RPA-2.10 mIgG1) se inmovilizó en biosensores anti-Fc humano (AHC; Pall ForteBio 18-5063) o biosensores anti-Fc murino (AMQ; Pall ForteBio 18-5090 y se incubó con 50 nM de ectodominio CD2 humano purificado (Sigma Aldrich y n.º de catálogo 5086). La afinidad monovalente aparente (K_D), velocidad de asociación aparente (K_{ON}) y velocidad de disociación aparente (K_{DIS}) se determinaron mediante un ajuste local completo con un modelo de unión 1:1 calculado por el software de análisis de datos ForteBio, versión 10 de cada IgG a ectodominio CD2 humano purificado mostrado en la tabla 2.

Se proporciona una caracterización adicional de anticuerpos anti-CD2 en los ejemplos 2 a 6.

Tabla 2: Cinética de unión de la IgG indicada al ectodominio CD2 humano

Anticuerpo	Conc. (nM)	Respuesta (nm)	K_D (M)	K_{ON} (1/Ms)	K_{DIS} (1/s)	R^2 completo
mRPA-2.10	50	0,1807	2,00E-09	8,60E+04	1,72E-04	0,9952
Ab1	50	0,0615	2,12E-09	1,36E+05	2,89E-04	0,9683

Ejemplo 2: Análisis de unión de estirpe celular *in vitro* de anticuerpos anti-CD2

Se sembraron en placa células MOLT-4 (es decir, una estirpe celular de linfoblastos T humanos inmortalizados) a 20.000 células/pocillo y se tiñeron con una titulación de los

anticuerpos anti-CD2 murinos indicados (es decir, RPA-2.10, TS1/8, BH1, UMCD2, 1E7E8.G4 o LT2) durante 2 horas a 4 °C. Se añadió tinción secundaria anti-AF488 de ratón, en una cantidad constante, durante 30 minutos a 4 °C. Después del lavado, las

5 placas se ejecutaron en un citómetro de flujo y se determinó la unión del anticuerpo indicado (y el control negativo, es decir, mIgG1) basándose en la intensidad de fluorescencia media geométrica en el canal de AF488. Los resultados de estos ensayos se proporcionan en la Fig. 1.

10

Como se muestra en la Fig. 1, los anticuerpos murinos anti-CD2 RPA-2.10, TS1/8, BH1, UMCD2, 1E7E8.G4 y LT2 se unen a las células de linfoblastos T humanos (es decir, células MOLT-4), con una CE_{50} = 160 pM (RPA-2.10), 125 pM (TS 1/8), 639 pM

15 (BH1), 151 pM (UMCD2), 134 pM (1E7E8) y 60 pM (LT2).

Ejemplo 3: Análisis de unión a células primarias *in vitro* de anticuerpos anti-CD2

20

Se sembraron en placa linfocitos T humanos primarios a 8×10^4 células/pocillo y se tiñeron con una titulación del anticuerpo anti-CD23 murino RPA-2.10 durante 2 horas a 37 °C. Se añadió tinción secundaria AF488 anti-humano o anti-ratón, en relación con anticuerpo primario, en una cantidad constante,

25 durante 30 minutos a 4 °C. Después del lavado, las placas se ejecutaron en un citómetro de flujo y se determinó la unión del anticuerpo indicado (y el control negativo, es decir, mIgG1 o hIgG1) basándose en la intensidad de fluorescencia media geométrica en el canal de AF488. Los resultados de estos

30 ensayos se proporcionan en la Fig. 2.

Como se muestra en la Fig. 2, el anticuerpo murino RPA-

2.10 anti-CD2 se une a los linfocitos T humanos primarios con una $CE_{50} = 1,84 \text{ pM}$ (RPA-2.10).

Ejemplo 4. Análisis *in vitro* de un conjugado anticuerpo-fármaco

5 (ADC) anti-CD2-amanitina usando un ensayo de destrucción de linfocitos T *in vitro*

El anticuerpo anti-CD2 RPA 2.10 se conjugó con amanitina con un enlazador escindible para formar un ADC anti-CD2. Se
10 preparó un anti-CD2-ADC a partir del anticuerpo murino anti-CD2 RPA-2.10 que tiene una relación promedio de fármaco con respecto a anticuerpo (DAR) entre cadenas de 6. Se preparó un segundo ADC anti-CD2 que tenía un DAR promedio de 2 usando una variante quimérica humana de RPA-2.10 conjugada con amanitina
15 usando conjugación específica del sitio. Además, se generó una variante de semivida rápida de ADC anti-CD2 mediante la introducción de una mutación H435A. Cada ADC anti-CD2 se evaluó usando un ensayo de destrucción de linfocitos T humanos *in vitro*.

20

Los linfocitos T humanos primarios crioconservados seleccionados negativamente se descongelaron y se estimularon con anticuerpos anti-CD3 e IL-2. Al comienzo del ensayo, se sembraron 2×10^4 linfocitos T por pocillo de una placa de 384
25 pocillos y los ADC indicados o anticuerpo anti-CD2 no conjugado se añadieron a los pocillos a diversas concentraciones entre 0,003 nM y 30 nM antes de colocarlos en una incubadora con 37 °C y CO₂ al 5 %. Después de cinco días de cultivo, las células se analizaron por citometría de flujo. Las células se
30 tiñeron con un marcador de viabilidad 7-AAD y se ejecutaron en un citómetro de flujo volumétrico. Los números de linfocitos T viables (Figs. 3A y 3B) se determinaron mediante FSC frente a

SSC y tinción de 7-AAD. Un anticuerpo anti-CD2 no conjugado (RPA 2.10) sirvió como comparador (Fig. 3A).

Como se muestra en la Fig. 3A, los ADC anti-CD2 que tienen una relación fármaco con respecto a anticuerpo entre cadenas de 6 presentaron una destrucción potente y específica de linfocitos T (CI50 = 5,0 pm) mientras que los linfocitos T permanecieron viables en presencia de anticuerpos no conjugados ("desnudos") anti-CD2. Como se muestra en la Fig. 3B, los ADC anti-CD2 quiméricos humanos que tienen una relación de fármaco con respecto a anticuerpo específica de sitio de 2 conservaron un nivel potente de destrucción de linfocitos T (CI50 = 1,0 pm) similar al de los ADC DAR 6. Además, la variante de semivida rápida de los ADC anti-CD2 (H435A) presentó un nivel similar de destrucción de linfocitos T (CI50 = 6,3 pm; Fig. 3B) como un ADC anti-CD2 con semivida TS.

Ejemplo 5. Análisis *in vitro* de un conjugado anticuerpo-fármaco (ADC) anti-CD2-amanitina usando un ensayo de destrucción de linfocitos T *in vitro*

El anticuerpo anti-CD2 RPA 2.10 se conjugó con amanitina con un enlazador escindible para formar ADC anti-CD2 entre cadenas con una relación promedio de fármaco a anticuerpo (DAR) entre cadenas de 6. El ADC anti-CD2 se evaluó utilizando un ensayo de destrucción de linfocitos citolíticos naturales (NK) *in vitro*.

Se cultivaron linfocitos NK CD56+ CD3- humanos primarios con IL-2 e IL-15 recombinantes durante cuatro días. Al comienzo del ensayo, se sembraron 30.000 linfocitos NK recién aislados de un donante humano sano por pocillo de una placa de 384

pocillos y se añadió el ADC o control indicado (es decir, ADC de IgG1 o IgG1-amanitina) a los pocillos a diversas concentraciones entre 0,003 nM y 30 nM antes de colocarlo en una incubadora con 37 °C y CO₂ al 5 %. Después de 4 días de cultivo, se analizó la viabilidad de los linfocitos NK mediante un ensayo CellTiter-Glo (Fig. 4).

Como se muestra en la Fig. 4, el ADC anti-CD2 presentó una potente destrucción de los linfocitos NK, con una CI50 de 5.2 pM. La falta de destrucción completa por el ADC anti-CD2 es coherente con el hecho de que CD2 solo se expresa en aproximadamente el 75 % de los linfocitos NK.

Ejemplo 6. Análisis de agotamiento de linfocitos T usando un modelo de ratón hNSG

Se realizaron ensayos de agotamiento de linfocitos T *in vivo* usando ratones NSG humanizados (Jackson Laboratories). Un anticuerpo anti-CD2 RPA 2.10 se conjugó con amanitina con un enlazador escindible para formar un ADC anti-CD2. Se preparó un ADC anti-CD2 con RPA 2.10 murino que tenía una relación promedio de fármaco con respecto a anticuerpo (DAR) entre cadenas de 6, mientras que otro ADC anti-CD2 se preparó con RPA 2.10 quimérico humano que tenía un DAR promedio específico del sitio de 2. Cada ADC anti-CD2 (DAR6 y DAR2) se administró como una inyección intravenosa única (0,3 mg/kg, 1 mg/kg o 3 mg/kg para ADC DAR6 y 1 mg/kg o 3 mg/kg para ADC DAR2) al modelo de ratón humanizado. Se recogieron muestras de células sanguíneas periféricas, de médula ósea o tímicas el día 7 y se determinó el número absoluto de linfocitos T CD3+ mediante citometría de flujo (véanse las Fig. 5A y 5B para ADC DAR2 y 6A-6C para ADC DAR6).

Como se muestra en las Fig. 5A-5B, los ratones NSG humanizados tratados con 0,3 mg/kg, 1 mg/kg o 3 mg/kg de ADC anti-CD2 DAR6 entre cadenas presentaron un agotamiento potente de linfocitos T en sangre periférica o en la médula ósea mientras que los linfocitos T tímicos se agotaron después del tratamiento con 3 mg/kg de ADC anti-CD2 DAR6. Para comparación, las Figs. 5A y 5B también muestran el nivel de agotamiento de linfocitos T después del tratamiento de ratones NSG humanizados con Ab1 25 mg/kg (un anticuerpo anti-CD2 no conjugado) o con los controles indicados (es decir, 25 mg/kg de anticuerpo anti-CD52 (clon YTH34.5); ADC hIgG1-amanitina 3 mg/kg ("hIgG1-AM"), hIgG1 25 mg/kg o PBS).

Como se muestra en las Fig. 6A-6C los ratones NSG humanizados tratados con 1 mg/kg o 3 mg/kg de ADC anti-CD2 DAR2 específico de sitio presentaron un agotamiento potente de linfocitos T en sangre periférica o en la médula ósea mientras que los linfocitos T tímicos presentaron aproximadamente 59 % de agotamiento después del tratamiento con 3 mg/kg de ADC anti-CD2 DAR2. A modo de comparación, las Fig. 6A-6C también muestran el nivel de agotamiento de linfocitos T después del tratamiento de ratones NSG humanizados con 3 mg/kg de un anticuerpo anti-CD2 no conjugado o con los controles indicados (es decir, ADC hIgG1-amanitina 3 mg/kg ("hIgG1-AMC") o PBS).

25

Tabla 4: Sumario de secuencias

Identificador de secuencia	Descripción	Secuencia
SEQ ID NO: 1	CDR-H1 de Ab1	EYYMY
SEQ ID NO: 2	CDR-H2 de Ab1	RIDPEDGSIDYVEKFKK
SEQ ID NO: 3	CDR-H3 de Ab1	GKFNYRFAY

Identificador de secuencia	Descripción	Secuencia
SEQ ID NO: 4	CDR-L1 de Ab1	RSSQSLLHSSGNTYLN
SEQ ID NO: 5	CDR-L2 de Ab1	LVSKLES
SEQ ID NO: 6	CDR-L3 de Ab1	MQFTHYPYT
SEQ ID NO: 7	Región variable de la cadena pesada de Ab1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEYYMY WVRQAPGQGLELMGRIDPEDGSIDYVEKFKKKVTL TADTSSSTAYMELSSLTSDDTAVYYCARGKFNYRF AYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 8	Región variable de la cadena ligera de Ab1	DVVMTQSPPSLLVTLGQPASISCRSSQSLLHSSGN TYLNWLLQRPQGSPQPLIYLVSKLESGVPDRFSGS GSGTDFTLKISGVEAEDVGVYYCMQFTHYPYTFGQ GTKLE IK
SEQ ID NO: 9	Región variable de la cadena pesada de Ab1a	QVQLVQSGAEVQRPASVKVSCKASGYIFTEYYMY WVRQAPGQGLELVGRIDPEDGSIDYVEKFKKKVTL TADTSSSTAYMELSSLTSDDTAVYYCARGKFNYRF AYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 10	Región variable de la cadena ligera de Ab1a	DVVMTQSPPSLLVTLGQPASISCRSSQSLLHSSGN TYLNWLLQRPQGSPQPLIYLVSKLESGVPDRFSGS GSGTDFTLKISGVEAEDVGVYYCMQFTHYPYTFGQ GTKLEIK
SEQ ID NO: 11	Ab humano consenso Dominio variable de la cadena pesada	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GF^TTFSDYAMS WVRQAPGKGLEWVA VISENGSDTY^TYADSVKGRFTI SRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARD DRGGAVS YFDVWG QGTTLVTVSS
SEQ ID NO: 12	Ab humano consenso Dominio variable de la cadena ligera	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQDVSSYLAW YQQKPGKAPKLLIY AASSLES GVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYC QQYNSLPY^T TFGQGTKVE IKRT
SEQ ID NO: 13	Secuencia de CD2 humana	msfpckfvas fllifnvssk gavskeitna letwgalgqd inldipsfqm sddiddikwe ktsdkkkiaq frkeketfke kdtyklfkng tlkikhlktd dqdiykvsiy dtkgknvlek ifdlkiqerv skpkiswtci nttltcevmn gtdpelnlyq dgkhlklsqr vithkwttsl

Identificador de secuencia	Descripción	Secuencia
		sakfkctagn kvs-kessvep vscpek-gldi yliigicggg sllmvfvall vfyitkrkkq rsrrndeele trahrvatee rgrkphqipa stpqn-patsq hpppppghrs qapsh-rpppp ghrvqhqp-qk rppapsgtqv hqqkgpplpr prvqpkpphg aaenslspss n
SEQ ID NO: 14	CDR-H1 de RPA- 2.10	GFTFSSY
SEQ ID NO: 15	CDR-H2 de RPA- 2.10	SGGGF
SEQ ID NO: 16	CDR-H3 de RPA- 2.10 Variante 1	SSYGEIMDY
SEQ ID NO: 17	CDR-H3 de RPA- 2.10 Variante 2	SSYGELMDY
SEQ ID NO: 18	CDR-L1 de RPA- 2.10	RASQRIGTSIH
SEQ ID NO: 19	CDR-L2 de RPA- 2.10	YASESIS
SEQ ID NO: 20	CDR-L3 de RPA- 2.10	QQSHGWPF ^{TF}
SEQ ID NO: 21	Región variable de la cadena pesada de RPA- 2.10 Variante 1	EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYDMS WVRQTPEKRLEWVASISGGGFLYYLDSVKGRFTIS RDNARNILYLHMTSLRSED ^T AMY ^Y CARSSYGEIMD YWGQGTSTVTVSS
SEQ ID NO: 22	Región variable de la cadena pesada de RPA- 2.10 Variante 2	EVKLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGFTFSSYDMS WVRQTPEKRLEWVASISGGGFLYYLDSVKGRFTIS RDNARNILYLHMTSLRSED ^T AMY ^Y CARSSYGEIMD YWGQGTSTVTVSS
SEQ ID NO: 23	Región variable de la cadena ligera de RPA-	DILLTQSPAILSVPGERV ^S FS ^{CR} ASQRIGTSIH ^W YQQR ^T TGSPRL ^{LI} KYASESISGIPSRFSGSGSG ^T D FTLSINSVESEDVADY ^Y CQQSHGWPF ^{TF} FGGGTKLE

Identificador de secuencia	Descripción	Secuencia
	2.10	IE
SEQ ID NO: 24	Región constante de la cadena pesada de RPA-2.10	AKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPE PVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTV PSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCK PCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTTITLTPKVTCVV VDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNS TFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIE KTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCM ITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPIMDTDGS YFVYSKLVNQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHTE KSLSHSPGK
SEQ ID NO: 25	Región constante de la cadena ligera de RPA-2.10	RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK DINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSS TLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRN EC

Otras realizaciones

Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patentes mencionadas en la presente memoria descriptiva se incorporan en el presente documento como referencia como si se indicase que cada publicación o solicitud de patente independiente se incorpora por referencia.

Aunque la invención se ha descrito en relación con realizaciones específicas de la misma, se entenderá que es susceptible de modificaciones adicionales, y la presente solicitud tiene por objeto incluir cualquier variación, uso o adaptación de la invención siguiendo, en general, los principios de la invención e incluyendo dichas desviaciones de la invención que entran dentro de la práctica conocida o habitual dentro de la técnica a la que pertenece la invención y pueden aplicarse a las características esenciales expuestas

anteriormente en el presente documento, y sigue en el alcance de las reivindicaciones.

Otras realizaciones se encuentran en las
5 reivindicaciones.

1. Un método para agotar una población de células CD2+ en un paciente humano, comprendiendo el método administrar al
5 paciente una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD2, o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se conjuga con una citotoxina.
- 10 2. Un método para agotar una población de células CD2+ en un paciente humano que necesite un trasplante de células madre hematopoyéticas, comprendiendo el método administrar al
15 paciente una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD2, o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se conjuga con una citotoxina.
- 20 3. Un método para prevenir el rechazo de un injerto de células madre hematopoyéticas en un paciente humano que
25 necesite un trasplante de células madre hematopoyéticas, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD2, o fragmento de unión a antígeno del mismo, antes de que el paciente humano reciba un trasplante que comprende células madre hematopoyéticas, en
30 donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se conjuga con una citotoxina.
4. Un método para agotar una población de células CD2+ en un paciente humano que necesite un trasplante de células madre
30 hematopoyéticas, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD2, o

fragmento de unión a antígeno del mismo, antes de que el paciente reciba un trasplante que comprenda células madre hematopoyéticas, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se conjuga con una citotoxina.

5

5. Un método que comprende administrar a un paciente humano un trasplante que comprende células madre hematopoyéticas, en donde al paciente se le ha administrado anteriormente un anticuerpo anti-CD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en una cantidad suficiente para agotar una población de células CD2+ en el paciente, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se conjuga con una citotoxina.

10

6. Un método que comprende:

15

i) administrar a un paciente humano un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2, en una cantidad suficiente para agotar una población de células CD2+ en el paciente, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se conjuga con una citotoxina; y

20

ii) posteriormente administrar al paciente un trasplante que comprende células madre hematopoyéticas.

7. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es producido por la estirpe celular de hibridoma ATCC HB 11423.

25

8. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende un conjunto de CDR de región variable de la

30

cadena pesada (CDR1, CDR2 y CDR3) y un conjunto de CDR de región variable de la cadena ligera (CDR1, CDR2 y CDR3) de anticuerpo LO-CD2A producido por la estirpe celular de hibridoma que tiene el número de acceso de ATCC HB 11423.

5

9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, es

10

i) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno del mismo, que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una CDR-H1 como se expone en la SEQ ID NO: 1; una CDR-H2 como se expone en la SEQ ID NO: 2; una CDR-H3 como se expone en la SEQ ID NO: 3; y que comprende una región variable de la cadena ligera que comprende una CDR-L1 como se expone en la SEQ ID NO: 4; una CDR-L2 como se expone en la SEQ ID NO: 5; y una CDR-L3 como se expone en la SEQ ID NO: 6;

15

20

ii) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno del mismo, que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una CDR-H1 como se expone en la SEQ ID NO: 14; una CDR-H2 como se expone en la SEQ ID NO: 15; una CDR-H3 como se expone en la SEQ ID NO: 16 o 17; y que comprende una región variable de la cadena ligera que comprende una CDR-L1 como se expone en la SEQ ID NO: 18; una CDR-L2 como se expone en la SEQ ID NO: 19; y una CDR-L3 como se expone en la SEQ ID NO: 20;

25

30

iii) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno del mismo, que comprende una región variable de la cadena pesada como se expone en la SEQ ID NO: 7 y que comprende una región variable de la cadena ligera como se expone en la SEQ ID NO: 8;

iv) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno del mismo, que comprende una región variable de la cadena pesada como se expone en la SEQ ID NO: 9 y que comprende una región variable de la cadena ligera como se expone en la SEQ ID NO: 10; o

v) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno del mismo, que comprende una región variable de la cadena pesada como se expone en la SEQ ID NO: 21 o 22 y que comprende una región variable de la cadena ligera como se expone en la SEQ ID NO: 23.

10. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, inhibe de manera competitiva la unión de CD2 a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 9.

11. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se selecciona entre el grupo que consiste en un anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del mismo, un anticuerpo policlonal o fragmento de unión a antígeno del mismo, un anticuerpo humanizado o fragmento de unión a antígeno del mismo, un anticuerpo biespecífico o fragmento de unión a antígeno del mismo, un anticuerpo intacto, un dominio de inmunoglobulina de doble variable, una molécula Fv monocatenaria (scFv), un diacuerpo, un triacuerpo, un nanocuerpo, un armazón proteínico similar a anticuerpo, un fragmento Fv, un fragmento Fab, una molécula $F(ab')_2$ y un tándem di-scFv.

12. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es un anticuerpo humanizado o fragmento de unión a antígeno del mismo.

5

13. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde el anticuerpo tiene un isotipo seleccionado entre el grupo que consiste en IgG, IgA, IgM, IgD e IgE.

10 14. El método de la reivindicación 13, en donde el isotipo IgG es una IgG1 o una IgG4.

15 15. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde la citotoxina se selecciona entre el grupo que consiste en exotoxina A de *Pseudomonas*, deBouganina, toxina diftérica, una amatoxina, saporina, maitansina, un maitansinoide, una auristatina, una antraciclina, una caliqueamicina, irinotecán, SN-38, una duocarmicina, una pirrolobenzodiacepina, un dímero de pirrolobenzodiacepina, una indolinobenzodiacepina y un dímero de indolinobenzodiacepina, o una variante de los mismos.

16. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde la citotoxina es un inhibidor de la ARN polimerasa.

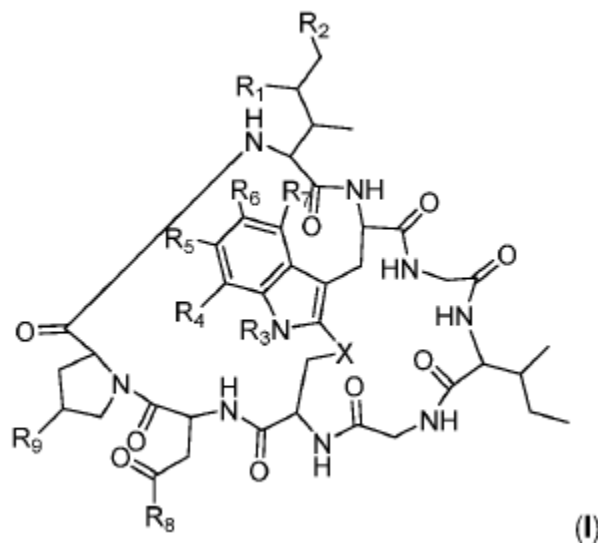
25

17. El método de la reivindicación 16, en donde el inhibidor de ARN polimerasa es un inhibidor de ARN polimerasa II.

18. El método de la reivindicación 17, en donde el inhibidor de ARN polimerasa II es amatoxina.

30

19. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo conjugado con una citotoxina se representa por la fórmula Ab-Z-L-Am, en donde Ab es el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, L es un enlazador, Z es un resto químico y Am es una amatoxina representada por la fórmula (I)



en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

10 R_A y R_B , cuando están presentes, junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente sustituido;

R_3 es H, R_C o R_D ;

15 R_4 , R_5 , R_6 y R_7 son cada uno independientemente H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C o NR_CR_D ;

R_9 es H, OH, OR_C u OR_D ;

X es -S-, -S(O)- o -SO₂-;

20 R_C es -L-Z;

R_D es alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, alquenilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquenilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, alquinilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido,

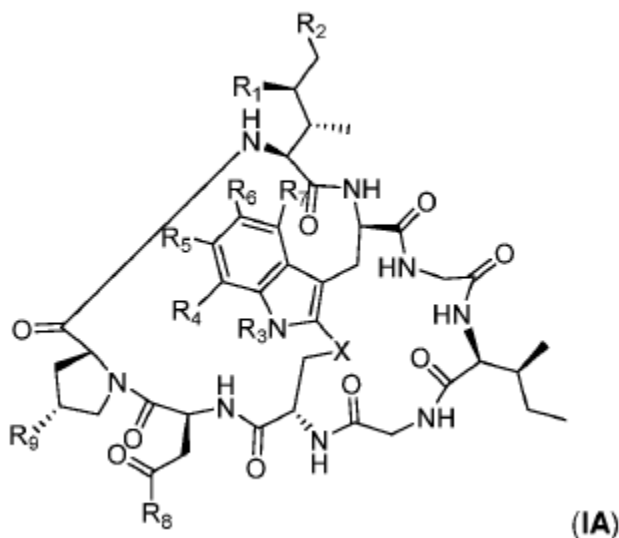
heteroalquinilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido;

5 L es alquilenos C_1-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilenos C_1-C_6 opcionalmente sustituido, alquilenos C_2-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilenos C_2-C_6 opcionalmente sustituido, alquilenos C_2-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilenos C_2-C_6 opcionalmente sustituido, cicloalquilenos opcionalmente sustituido, heterocicloalquilenos
 10 opcionalmente sustituido, arilenos opcionalmente sustituido, heteroarilenos opcionalmente sustituido, un dipéptido, $-C(=O)-$, un péptido o una combinación de los mismos; y

Z es un resto químico formado a partir de una reacción de
 15 acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en L y un sustituyente reactivo presente en el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo,

en donde Am comprende exactamente un sustituyente R_C .

20 20. El método de la reivindicación 19, en donde Am-L-Z se representa por la fórmula (IA).



en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

R_A y R_B , cuando están presentes, junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente sustituido;

5 R_3 es H, R_C o R_D ;

R_4 , R_5 , R_6 y R_7 son cada uno independientemente H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C o NR_CR_D ;

R_9 es H, OH, OR_C u OR_D ;

10 X es -S-, -S(O)- o -SO₂-;

R_C es -L-Z;

R_D es alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, alquenilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquenilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, alquinilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquinilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido;

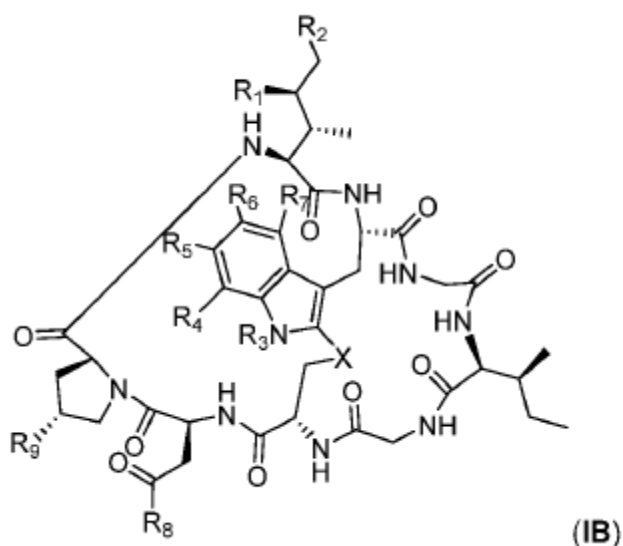
20 L es alquilenilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquilenilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, alquilenilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquilenilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, alquinilenilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquinilenilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, cicloalquilenilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilenilo opcionalmente sustituido, arilenilo opcionalmente sustituido, heteroarilenilo opcionalmente sustituido, un dipéptido, -C(=O)-, un péptido o una combinación de los mismos;

25 Z es un resto químico formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en L y un sustituyente reactivo presente en el anticuerpo o un fragmento

de unión a antígeno del mismo; y

en donde Am comprende exactamente un sustituyente R_C .

21. El método de la reivindicación 19, en donde Am-L-Z se
5 representa por la fórmula (IB).



en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

R_A y R_B , cuando están presentes, junto con los átomos de
10 oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un
grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente
sustituido;

R_3 es H, R_C o R_D ;

R_4 , R_5 , R_6 y R_7 son cada uno independientemente H, OH, OR_C , OR_D ,
15 R_C o R_D ;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C o NR_CR_D ;

R_9 es H, OH, OR_C u OR_D ;

X es -S-, -S(O)- o -SO₂-;

R_C es -L-Z;

20 R_D es alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido,
heteroalquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, alqueno C₂-C₆
opcionalmente sustituido, heteroalqueno C₂-C₆ opcionalmente
sustituido, alquino C₂-C₆ opcionalmente sustituido,
heteroalquino C₂-C₆ opcionalmente sustituido, cicloalquilo

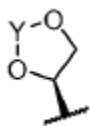
opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido;

L es alquilenos C_1-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilenos C_1-C_6 opcionalmente sustituido, alquenilenos C_2-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquenilenos C_2-C_6 opcionalmente sustituido, alquinilenos C_2-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquinilenos C_2-C_6 opcionalmente sustituido, cicloalquilenos opcionalmente sustituido, heterocicloalquilenos opcionalmente sustituido, arilenos opcionalmente sustituido, heteroarilenos opcionalmente sustituido, un dipéptido, $-C(=O)-$, un péptido o una combinación de los mismos; y

Z es un resto químico formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en L y un sustituyente reactivo presente en el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo,

en donde Am comprende exactamente un sustituyente R_C .

22. El método de la reivindicación 20 o 21, en donde R_A y R_B , junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros de fórmula:

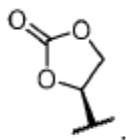


en donde Y es $-C(=O)-$, $-C(=S)-$, $-C(=NR_E)-$ o $-C(R_ER_{E'})-$; y R_E y $R_{E'}$ son cada uno independientemente alquilenos $C_1-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, heteroalquilenos $C_1-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, alquenilenos $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, heteroalquenilenos $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, alquinilenos $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, heteroalquinilenos $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido,

cicloalquilenos- R_C opcionalmente sustituido,
 heterocicloalquilenos- R_C opcionalmente sustituido, arilenos- R_C
 opcionalmente sustituido o heteroarilenos- R_C opcionalmente
 sustituido.

5

23. El método de la reivindicación 22, en donde R_A y R_B , junto
 con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan
 para formar:



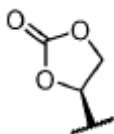
10

24. El método de la reivindicación 20 o 21, en donde R_1 es H,
 OH u OR_A ;

R_2 es H, OH u OR_B ;

R_A y R_B , junto con los átomos de oxígeno a los que están

15 unidos, se combinan para formar:



R_3 , R_4 , R_6 y R_7 son cada uno H;

R_5 es OR_C ;

R_8 es OH o NH_2 ; y

20 R_9 es H u OH.

25. El método de la reivindicación 20 o 21, en donde R_1 y R_2
 son cada uno independientemente H u OH;

R_3 es R_C ;

25 R_4 , R_6 y R_7 son cada uno H;

R_5 es H, OH u O-alquilo C_1-C_6 ;

R_8 es OH o NH_2 ; y

R_9 es H u OH.

26. El método de la reivindicación 20 o 21, en donde R_1 y R_2 son cada uno independientemente H u OH;

R_3 , R_6 y R_7 son cada uno H;

5 R_4 y R_5 son cada uno independientemente H, OH, OR_C o R_C ;

R_8 es OH o NH_2 ; y

R_9 es H u OH.

27. El método de la reivindicación 20 o 21, en donde R_1 y R_2 son cada uno independientemente H u OH;

R_3 , R_6 y R_7 son cada uno H;

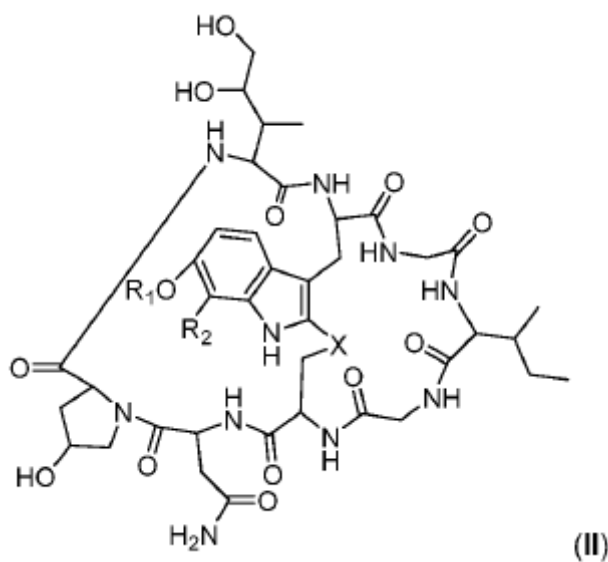
R_4 y R_5 son cada uno independientemente H u OH;

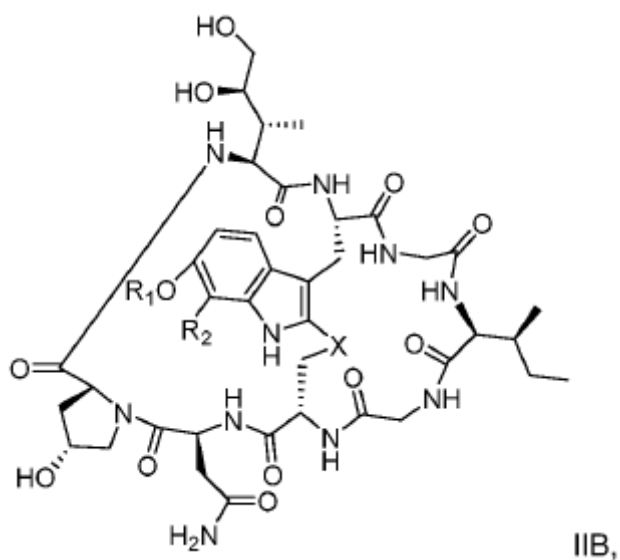
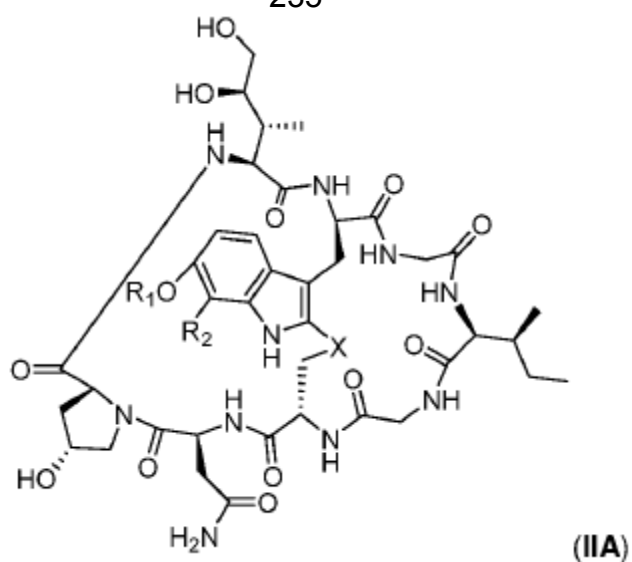
R_8 es OR_C o NHR_C ; y

R_9 es H u OH.

15

28. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo conjugado con una citotoxina se representa por la fórmula Ab-Z-L-Am, en donde Ab es el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, Z es un resto químico, L es un enlazador y Am es una amatoxina y el conjugado amatoxina-enlazador Am-L-Z se representa por la fórmula (II), la fórmula (IIA) o la fórmula (IIB)





en donde X es S, SO o SO₂;

R₁ es H o un enlazador unido covalentemente al anticuerpo
 5 o fragmento de unión a antígeno del mismo a través de un resto
 químico Z, formado a partir de una reacción de acoplamiento
 entre un sustituyente reactivo presente en el enlazador y un
 sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo o
 fragmento de unión a antígeno del mismo; y

10 R₂ es H o un enlazador unido covalentemente al anticuerpo
 o fragmento de unión a antígeno del mismo a través de un resto
 químico Z, formado a partir de una reacción de acoplamiento
 entre un sustituyente reactivo presente en el enlazador y un
 sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo o
 15 fragmento de unión a antígeno del mismo;

en donde cuando R₁ es H, R₂ es el enlazador y cuando R₂ es
 H, R₁ es el enlazador.

29. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde la citotoxina es un maitansinoide seleccionado entre el grupo que consiste en DM1 y DM4.

5

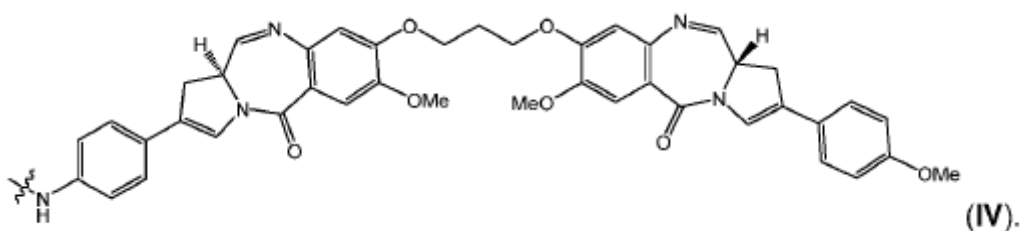
30. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde la citotoxina es una auristatina seleccionada entre el grupo que consiste en monometil auristatina E y monometil auristatina F.

10

31. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde la citotoxina es una antraciclina seleccionada entre el grupo que consiste en daunorrubicina, doxorrubicina, epirubicina e idarrubicina.

15

32. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde la citotoxina es un derivado de dímero de pirrolobenzodiacepina representado por la fórmula (IV)



20

33. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-32, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, conjugado con la citotoxina es internalizado por una célula inmunitaria después de la administración al paciente.

25

34. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-33, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, conjugado con la citotoxina es capaz de promover la

necrosis de una célula inmunitaria.

35. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-34, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, conjugado con la citotoxina es capaz de reclutar una o más proteínas del complemento a una célula inmunitaria tras la administración al paciente.

36. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 33-35, en donde la célula inmunitaria se selecciona entre el grupo que consiste en un linfocito T y linfocito NK.

37. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3-35, en donde el trasplante que comprende células madre hematopoyéticas se administra al paciente después de que la concentración del anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, conjugado con la citotoxina se haya eliminado sustancialmente de la sangre del paciente.

38. El método de la reivindicación 37, en donde el trasplante que comprende células madre hematopoyéticas se administra al paciente entre 1 hora y 7 días después de que la concentración del anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, conjugado con la citotoxina se haya eliminado sustancialmente de la sangre del paciente.

39. El método de la reivindicación 37, en donde el trasplante que comprende células madre hematopoyéticas se administra al paciente entre 6 horas y 3 días después de que la concentración del anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, conjugado con la citotoxina se haya eliminado sustancialmente

de la sangre del paciente.

40. El método de la reivindicación 37, en donde el trasplante que comprende células madre hematopoyéticas se administra al
5 paciente entre aproximadamente 12 horas y aproximadamente 36 horas después de que la concentración del anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, conjugado con la citotoxina se haya eliminado sustancialmente de la sangre del paciente.

10

41. El método de la reivindicación 37, en donde el trasplante que comprende células madre hematopoyéticas se administra al paciente aproximadamente 24 horas después de que la concentración del anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno
15 del mismo, conjugado con la citotoxina se haya eliminado sustancialmente de la sangre del paciente.

42. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3-35, en donde las células madre hematopoyéticas o la progenie de
20 las mismas mantienen el potencial funcional de células madre hematopoyéticas después de aproximadamente dos o más días tras el trasplante de las células madre hematopoyéticas al paciente.

43. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3-42,
25 en donde las células madre hematopoyéticas son autólogas con respecto al paciente.

44. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3-42, en donde las células madre hematopoyéticas son alogénas con
30 respecto al paciente.

45. El método de la reivindicación 44, en donde las células madre hematopoyéticas coinciden en HLA con respecto al paciente.

5 46. El método de la reivindicación 44, en donde las células madre hematopoyéticas no coinciden en HLA con respecto al paciente.

10 47. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 y 4-36, en donde la población de células CD2+ comprende linfocitos T.

15 48. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3-47, en donde las células madre hematopoyéticas o la progenie de las mismas son capaces de ubicarse en el tejido hematopoyético y/o restablecer la hematopoyesis después del trasplante de las células madre hematopoyéticas al paciente.

20 49. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 3-48, en donde tras el trasplante al paciente, las células madre hematopoyéticas originan la recuperación de una población de células seleccionada entre el grupo que consiste en megacariocitos, trombocitos, plaquetas, eritrocitos, mastocitos, mioblastos, basófilos, neutrófilos, eosinófilos, 25 microglía, granulocitos, monocitos, osteoclastos, células presentadoras de antígenos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos citolíticos naturales, linfocitos T y linfocitos B.

30 50. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-49, en donde el paciente padece un trastorno de células madre.

51. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-49, en donde el paciente padece un trastorno de hemoglobinopatía.

52. El método de la reivindicación 51, en donde el trastorno de hemoglobinopatía se selecciona entre el grupo que consiste en anemia falciforme, talasemia, anemia de Fanconi, anemia aplásica y síndrome de Wiskott-Aldrich.

53. El método de la reivindicación 51, en donde el trastorno de hemoglobinopatía es anemia de Fanconi.

54. El método de la reivindicación 51, en donde el trastorno de hemoglobinopatía es anemia aplásica.

55. El método de la reivindicación 51, en donde el trastorno de hemoglobinopatía es anemia falciforme.

56. El método de la reivindicación 51, en donde el trastorno de hemoglobinopatía es talasemia.

57. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-49, en donde el paciente padece un trastorno mielodisplásico.

58. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-49, en donde el paciente padece un trastorno de inmunodeficiencia.

59. El método de la reivindicación 58, en donde el trastorno de inmunodeficiencia es una inmunodeficiencia congénita.

60. El método de la reivindicación 58, en donde el trastorno de inmunodeficiencia es una inmunodeficiencia adquirida.

61. El método de la reivindicación 60, en donde la inmunodeficiencia adquirida es el virus de inmunodeficiencia humana o el síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

5

62. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-49, en donde el paciente padece un trastorno metabólico.

10

63. El método de la reivindicación 62, en donde el trastorno metabólico se selecciona entre el grupo que consiste en enfermedades de almacenamiento de glucógeno, mucopolisacaridosis, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Hurler, esfingolipidosis y leucodistrofia metacromática.

15

64. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-63, en donde el paciente padece cáncer.

20

65. El método de la reivindicación 64, en donde el cáncer se selecciona entre el grupo que consiste en leucemia, linfoma, mieloma múltiple y neuroblastoma.

25

66. El método de la reivindicación 64, en donde el cáncer es un cáncer hemático.

67. El método de la reivindicación 64, en donde el cáncer es leucemia mieloide aguda.

30

68. El método de la reivindicación 64, en donde el cáncer es leucemia linfoide aguda.

69. El método de la reivindicación 64, en donde el cáncer es

leucemia mieloide crónica.

70. El método de la reivindicación 64, en donde el cáncer es leucemia linfoide crónica.

5

71. El método de la reivindicación 64, en donde el cáncer es mieloma múltiple.

10

72. El método de la reivindicación 64, en donde el cáncer es linfoma difuso de linfocitos B grandes.

73. El método de la reivindicación 64, en donde el cáncer es linfoma no Hodgkin.

15

74. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-73, en donde el paciente padece un trastorno seleccionado entre el grupo que consiste en deficiencia de adenosina desaminasa e inmunodeficiencia combinada grave, síndrome de hiper inmunoglobulina M, enfermedad de Chediak-Higashi, linfohistiocitosis hereditaria, osteopetrosis, osteogénesis imperfecta, enfermedades de almacenamiento, talasemia mayor, esclerosis sistémica, lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide juvenil.

20

25

75. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-74, en donde el paciente padece un trastorno autoinmunitario.

30

76. El método de la reivindicación 75, en donde el trastorno autoinmunitario se selecciona entre el grupo que consiste en esclerosis múltiple, lupus sistémico humano, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, tratamiento de

la psoriasis, diabetes mellitus de tipo 1, encefalomiелitis
diseminada aguda, enfermedad de Addison, alopecia universal,
espondilitis anquilosante, síndrome de anticuerpos
antifosfolípidos, anemia aplásica, anemia hemolítica
5 autoinmunitaria, hepatitis autoinmunitaria, enfermedad
autoinmunitaria del oído interno, síndrome linfoproliferativo
autoinmunitario, ooforitis autoinmunitaria, enfermedad de
Balo, enfermedad de Behcet, penfigoide ampolloso,
cardiomiopatía, enfermedad de Chagas, síndrome de disfunción
10 inmunitaria por fatiga crónica, polineuropatía desmielinizante
inflamatoria crónica, enfermedad de Crohn, penfigoide
cicatricial, dermatitis herpética celiaca, enfermedad de
crioaglutinina, síndrome CREST, enfermedad de Degos, lupus
discoide, disautonomía, endometriosis, crioglobulinemia mixta
15 esencial, fibromialgia-fibromiositis, síndrome de Goodpasture,
enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barré, tiroiditis
de Hashimoto, hidradenitis supurativa, púrpura
trombocitopénica idiopática y/o aguda, fibrosis pulmonar
idiopática, neuropatía por IgA, cistitis intersticial,
20 artritis juvenil, enfermedad de Kawasaki, liquen plano,
enfermedad de Lyme, enfermedad de Meniere, enfermedad mixta
del tejido conectivo, miastenia grave, neuromiotonía, síndrome
de opsoclono mioclono, neuritis óptica, tiroiditis de Ord,
pénfigo vulgar, anemia perniciosa, policondritis, polimiositis
25 y dermatomiositis, cirrosis biliar primaria, poliarteritis
nodosa, síndromes poliglandulares, polimialgia reumática,
agammaglobulinemia primaria, fenómeno de Raynaud, síndrome de
Reiter, fiebre reumática, sarcoidosis, esclerodermia, síndrome
de Sjögren, síndrome de persona rígida, arteritis de Takayasu,
30 arteritis temporal, colitis ulcerosa, uveítis, vasculitis,
vitíligo, vulvodinia y granulomatosis de Wegener.

77. El método de la reivindicación 75, en donde el trastorno autoinmunitario es esclerodermia.

5 78. El método de la reivindicación 75, en donde el trastorno autoinmunitario es esclerosis múltiple.

79. El método de la reivindicación 75, en donde el trastorno autoinmunitario es colitis ulcerosa.

10

80. El método de la reivindicación 75, en donde el trastorno autoinmunitario es enfermedad de Crohn.

81. El método de la reivindicación 75, en donde el trastorno
15 autoinmunitario es diabetes de tipo 1.

82. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 50-81, en donde el método trata el trastorno o cáncer.

20 83. Un método para tratar un trastorno de las células madre en un paciente humano, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del
25 mismo, se conjuga con una citotoxina.

84. Un método para tratar un trastorno de hemoglobinopatía en un paciente humano, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo,
30 o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del

mismo, se conjuga con una citotoxina.

85. El método de la reivindicación 84, en donde el trastorno de hemoglobinopatía se selecciona entre el grupo que consiste en anemia falciforme, talasemia, anemia de Fanconi, anemia aplásica y síndrome de Wiskott-Aldrich.

86. El método de la reivindicación 84, en donde el trastorno de hemoglobinopatía es anemia de Fanconi.

87. El método de la reivindicación 84, en donde el trastorno de hemoglobinopatía es anemia aplásica.

88. El método de la reivindicación 84, en donde el trastorno de hemoglobinopatía es anemia falciforme.

89. El método de la reivindicación 84, en donde el trastorno de hemoglobinopatía es talasemia.

90. Un método para tratar un trastorno mielodisplásico en un paciente humano, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se conjuga con una citotoxina.

91. Un método para tratar un trastorno de inmunodeficiencia en un paciente humano, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del

mismo, se conjuga con una citotoxina.

92. El método de la reivindicación 91, en donde el trastorno de inmunodeficiencia es una inmunodeficiencia congénita.

5

93. El método de la reivindicación 91, en donde el trastorno de inmunodeficiencia es una inmunodeficiencia adquirida.

10

94. El método de la reivindicación 93, en donde la inmunodeficiencia adquirida es el virus de inmunodeficiencia humana o el síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

15

95. Un método para tratar un trastorno metabólico en un paciente humano, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se conjuga con una citotoxina.

20

96. El método de la reivindicación 95, en donde el trastorno metabólico se selecciona entre el grupo que consiste en enfermedades de almacenamiento de glucógeno, mucopolisacaridosis, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Hurler, esfingolipidosis y leucodistrofia metacromática.

25

30

97. Un método para tratar un cáncer en un paciente humano, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a CD2, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se conjuga con una citotoxina.

98. El método de la reivindicación 97, en donde el cáncer se selecciona entre el grupo que consiste en leucemia, linfoma, mieloma múltiple y neuroblastoma.

5

99. El método de la reivindicación 97, en donde el cáncer es un cáncer hemático.

10

100. El método de la reivindicación 97, en donde el cáncer es leucemia mieloide aguda.

101. El método de la reivindicación 97, en donde el cáncer es leucemia linfoide aguda.

15

102. El método de la reivindicación 97, en donde el cáncer es leucemia mieloide crónica.

103. El método de la reivindicación 97, en donde el cáncer es leucemia linfoide crónica.

20

104. El método de la reivindicación 97, en donde el cáncer es mieloma múltiple.

25

105. El método de la reivindicación 97, en donde el cáncer es linfoma difuso de linfocitos B grandes.

106. El método de la reivindicación 97, en donde el cáncer es linfoma no Hodgkin.

30

107. Un método para tratar un trastorno seleccionado entre el grupo que consiste en deficiencia de adenosina desaminasa e

inmunodeficiencia combinada grave, síndrome de hiperinmunoglobulina M, enfermedad de Chediak-Higashi, linfocitosis hereditaria, osteopetrosis, osteogénesis imperfecta, enfermedades de almacenamiento, talasemia mayor, 5 esclerosis sistémica, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple y artritis reumatoide juvenil en un paciente humano, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a CD2, en donde el anticuerpo, 10 o fragmento de unión a antígeno del mismo, se conjuga con una citotoxina.

108. Un método para tratar un trastorno autoinmunitario en un paciente humano, comprendiendo el método administrar al 15 paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a CD2, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se conjuga con una citotoxina.

20 109. El método de la reivindicación 108, en donde el trastorno autoinmunitario se selecciona entre el grupo que consiste en esclerosis múltiple, lupus sistémico humano, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, tratamiento de la psoriasis, diabetes mellitus de tipo 1, encefalomiелitis 25 diseminada aguda, enfermedad de Addison, alopecia universal, espondilitis anquilosante, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, anemia aplásica, anemia hemolítica autoinmunitaria, hepatitis autoinmunitaria, enfermedad autoinmunitaria del oído interno, síndrome linfoproliferativo 30 autoinmunitario, ooforitis autoinmunitaria, enfermedad de Balo, enfermedad de Behcet, penfigoide ampolloso,

- cardiomiopatía, enfermedad de Chagas, síndrome de disfunción inmunitaria por fatiga crónica, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, enfermedad de Crohn, penfigoide cicatricial, dermatitis herpética celiaca, enfermedad de
- 5 crioaglutinina, síndrome CREST, enfermedad de Degos, lupus discoide, disautonomía, endometriosis, crioglobulinemia mixta esencial, fibromialgia-fibromiositis, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barré, tiroiditis de Hashimoto, hidradenitis supurativa, púrpura
- 10 trombocitopénica idiopática y/o aguda, fibrosis pulmonar idiopática, neuropatía por IgA, cistitis intersticial, artritis juvenil, enfermedad de Kawasaki, liquen plano, enfermedad de Lyme, enfermedad de Meniere, enfermedad mixta del tejido conectivo, miastenia grave, neuromiotonía, síndrome
- 15 de opsoclono mioclono, neuritis óptica, tiroiditis de Ord, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, policondritis, polimiositis y dermatomiositis, cirrosis biliar primaria, poliarteritis nodosa, síndromes poliglandulares, polimialgia reumática, agammaglobulinemia primaria, fenómeno de Raynaud, síndrome de
- 20 Reiter, fiebre reumática, sarcoidosis, esclerodermia, síndrome de Sjögren, síndrome de persona rígida, arteritis de Takayasu, arteritis temporal, colitis ulcerosa, uveítis, vasculitis, vitíligo, vulvodinia y granulomatosis de Wegener.
- 25 110. El método de la reivindicación 108, en donde el trastorno autoinmunitario es esclerodermia.
111. El método de la reivindicación 108, en donde el trastorno autoinmunitario es esclerosis múltiple.
- 30 112. El método de la reivindicación 108, en donde el trastorno

autoinmunitario es colitis ulcerosa.

113. El método de la reivindicación 108, en donde el trastorno autoinmunitario es enfermedad de Crohn.

5

114. El método de la reivindicación 108, en donde el trastorno autoinmunitario es diabetes de tipo 1.

10

115. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 83-114, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es producido por la estirpe celular de hibridoma ATCC HB 11423.

15

116. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 83-114, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, es

20

i) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno del mismo, que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una CDR-H1 como se expone en la SEQ ID NO: 1; una CDR-H2 como se expone en la SEQ ID NO: 2; una CDR-H3 como se expone en la SEQ ID NO: 3; y que comprende una región variable de la cadena ligera que comprende una CDR-L1 como se expone en la SEQ ID NO: 4; una CDR-L2 como se expone en la SEQ ID NO: 5; y una CDR-L3 como se expone en la SEQ ID NO: 6;

25

ii) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno del mismo, que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una CDR-H1 como se expone en la SEQ ID NO: 14; una CDR-H2 como se expone en la SEQ ID NO: 15; una CDR-H3 como se expone en la SEQ ID NO: 16 o 17; y que comprende una región variable de la cadena ligera que

30

comprende una CDR-L1 como se expone en la SEQ ID NO: 18;
una CDR-L2 como se expone en la SEQ ID NO: 19; y una CDR-L3 como se expone en la SEQ ID NO: 20;

iii) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno
5 del mismo, que comprende una región variable de la cadena pesada como se expone en la SEQ ID NO: 7 y que comprende una región variable de la cadena ligera como se expone en la SEQ ID NO: 8;

iv) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno
10 del mismo, que comprende una región variable de la cadena pesada como se expone en la SEQ ID NO: 9 y que comprende una región variable de la cadena ligera como se expone en la SEQ ID NO: 10; o

v) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno del
15 mismo, que comprende una región variable de la cadena pesada como se expone en la SEQ ID NO: 21 o 22 y que comprende una región variable de la cadena ligera como se expone en la SEQ ID NO: 23.

20 117. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 83-114, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe de manera competitiva la unión de CD2 a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo como se expone en la reivindicación 116.

25

118. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 83-117, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se selecciona entre el grupo que consiste en un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo
30 humanizado, un anticuerpo biespecífico, un dominio de inmunoglobulina de doble variable, una molécula Fv

monocatenaria (scFv), un diacuerpo, un triacuerpo, un nanocuerpo, un armazón proteínico similar a anticuerpo, un fragmento Fv, un fragmento Fab, una molécula $F(ab')_2$ y un tándem di-scFv.

5

119. El método de la reivindicación 83-117, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es un anticuerpo humanizado o fragmento de unión a antígeno del mismo.

10

120. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 83-119, en donde el anticuerpo tiene un isotipo seleccionado entre el grupo que consiste en IgG, IgA, IgM, IgD e IgE.

15

121. El método de la reivindicación 120, en donde el isotipo IgG es una IgG1 o una IgG4.

20

122. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 83-117, en donde la citotoxina se selecciona entre el grupo que consiste en exotoxina A de *Pseudomonas*, deBouganina, toxina diftérica, una amatoxina, saporina, maitansina, un maitansinoide, una auristatina, una antraciclina, una caliqueamicina, irinotecán, SN-38, una duocarmicina, una pirrolobenzodiacepina, un dímero de pirrolobenzodiacepina, una indolinobenzodiacepina y un dímero de indolinobenzodiacepina, o una variante de los mismos.

25

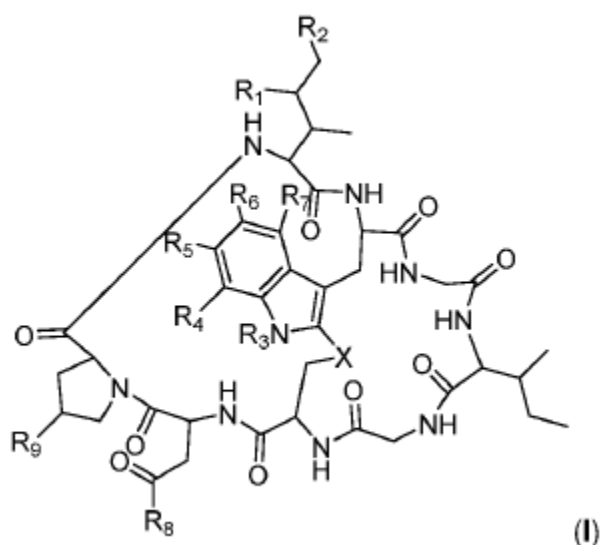
30

123. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 83-117, en donde la citotoxina es un inhibidor de la ARN polimerasa.

124. El método de la reivindicación 123, en donde el inhibidor de ARN polimerasa es un inhibidor de ARN polimerasa II.

125. El método de la reivindicación 124, en donde el inhibidor de ARN polimerasa II es amatoxina.

126. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 83-117, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo conjugado con una citotoxina se representa por la fórmula $Ab-Z-L-Am$, en donde Ab es el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, L es un enlazador, Z es un resto químico y Am es una amatoxina representada por la fórmula (I)



en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

R_A y R_B , cuando están presentes, junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente sustituido;

R_3 es H, R_C o R_D ;

R_4 , R_5 , R_6 y R_7 son cada uno independientemente H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C o NR_CR_D ;

R_9 es H, OH, OR_C u OR_D ;

X es -S-, -S(O)- o -SO₂-;

R_C es -L-Z;

R_D es alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, alquenilo C₂-C₆ 5 opcionalmente sustituido, heteroalquenilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, alquinilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquinilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo 10 opcionalmente sustituido;

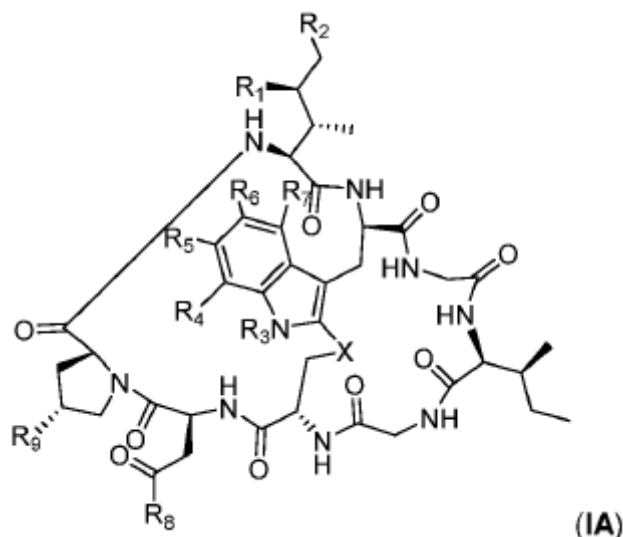
L es alquilenilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquilenilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido, alquenilenilo C₂-C₆ 15 opcionalmente sustituido, heteroalquenilenilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, alquinilenilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquinilenilo C₂-C₆ opcionalmente sustituido, cicloalquilenilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilenilo opcionalmente sustituido, arilenilo opcionalmente sustituido o heteroarilenilo opcionalmente sustituido, un dipéptido, -C(=O)-, un péptido o una combinación de los mismos; y

20 Z es un resto químico formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en L y un sustituyente reactivo presente en el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo,

en donde Am comprende exactamente un sustituyente R_C.

25

127. El método de la reivindicación 126, en donde Am-L-Z se representa por la fórmula (IA).



en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

R_A y R_B , cuando están presentes, junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente sustituido;

R_3 es H, R_C o R_D ;

R_4 , R_5 , R_6 y R_7 son cada uno independientemente H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C o NR_CR_D ;

R_9 es H, OH, OR_C u OR_D ;

X es $-S-$, $-S(O)-$ o $-SO_2-$;

R_C es $-L-Z$;

R_D es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, alquenilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquenilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, alquinilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquinilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido;

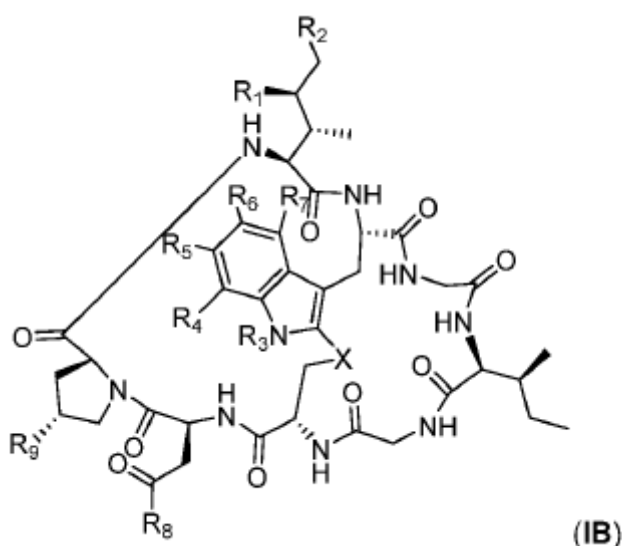
L es alquilenio C_1-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilenio C_1-C_6 opcionalmente sustituido, alquilenio C_2-

C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquenileno C₂-C₆ opcionalmente sustituido, alquinileno C₂-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquinileno C₂-C₆ opcionalmente sustituido, cicloalquileno opcionalmente sustituido, heterocicloalquileno
 5 opcionalmente sustituido, arileno opcionalmente sustituido, heteroarileno opcionalmente sustituido, un dipéptido, -C(=O)-, un péptido o una combinación de los mismos;

Z es un resto químico formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en L y un
 10 sustituyente reactivo presente en el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo; y

en donde Am comprende exactamente un sustituyente R_C.

128. El método de la reivindicación 126, en donde Am-L-Z se
 15 representa por la fórmula (IB).



en donde R₁ es H, OH, OR_A u OR_C;

R₂ es H, OH, OR_B u OR_C;

R_A y R_B, cuando están presentes, junto con los átomos de
 20 oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente sustituido;

R₃ es H, R_C o R_D;

R₄, R₅, R₆ y R₇ son cada uno independientemente H, OH, OR_C,

OR_D , R_C o R_D ;

R_8 es OH , NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C o NR_CR_D ;

R_9 es H , OH , OR_C u OR_D ;

X es $-S-$, $-S(O)-$ o $-SO_2-$;

5 R_C es $-L-Z$;

R_D es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, alquenilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquenilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, alquinilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquinilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido;

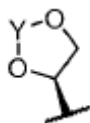
10 L es alquilenilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilenilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, alquenilenilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquenilenilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, alquinilenilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquinilenilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, cicloalquilenilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilenilo opcionalmente sustituido, arilenilo opcionalmente sustituido, heteroarilenilo opcionalmente sustituido, un dipéptido, $-C(=O)-$, un péptido o una combinación de los mismos; y

15 Z es un resto químico formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en L y un sustituyente reactivo presente en el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo,

en donde Am comprende exactamente un sustituyente R_C .

129. El método de la reivindicación 127 o 128, en donde R_A y R_B , junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros

de fórmula:

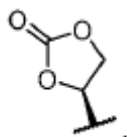


en donde Y es $-C(=O)-$, $-C(=S)-$, $-C(=NR_E)-$ o $-C(R_E R_{E'})-$; y

R_E y $R_{E'}$ son cada uno independientemente alquilenos C_1-C_6-

- 5 R_C opcionalmente sustituido, heteroalquilenos $C_1-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, alquilenos $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, heteroalquilenos $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, alquilenos $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, heteroalquilenos $C_2-C_6-R_C$ opcionalmente sustituido, cicloalquilenos- R_C opcionalmente sustituido, heterocicloalquilenos- R_C opcionalmente sustituido, arilenos- R_C opcionalmente sustituido o heteroarilenos- R_C opcionalmente sustituido.
- 10

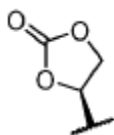
- 15 130. El método de la reivindicación 129, en donde R_A y R_B , junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar:



- 20 131. El método de la reivindicación 127 o 128, en donde R_1 es H, OH u OR_A ;

R_2 es H, OH u OR_B ;

R_A y R_B , junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar:



25

R_3 , R_4 , R_6 y R_7 son cada uno H;

R_5 es OR_C ;

R_8 es OH o NH_2 ; y

R_9 es H u OH.

5 132. El método de la reivindicación 127 o 128, en donde R_1 y R_2 son cada uno independientemente H u OH;

R_3 es R_C ;

R_4 , R_6 y R_7 son cada uno H;

R_5 es H, OH u O-alquilo C_1-C_6 ;

10 R_8 es OH o NH_2 ; y

R_9 es H u OH.

133. El método de la reivindicación 127 o 128, en donde R_1 y R_2 son cada uno independientemente H u OH;

15 R_3 , R_6 y R_7 son cada uno H;

R_4 y R_5 son cada uno independientemente H, OH, OR_C o R_C ;

R_8 es OH o NH_2 ; y

R_9 es H u OH.

20 134. El método de la reivindicación 127 o 128, en donde R_1 y R_2 son cada uno independientemente H u OH;

R_3 , R_6 y R_7 son cada uno H;

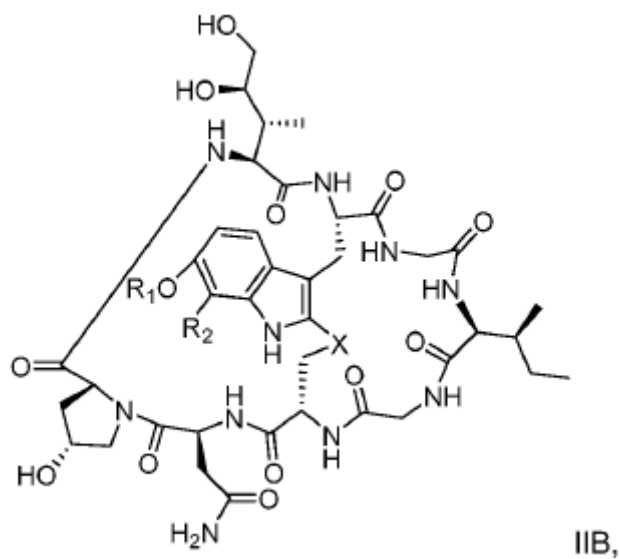
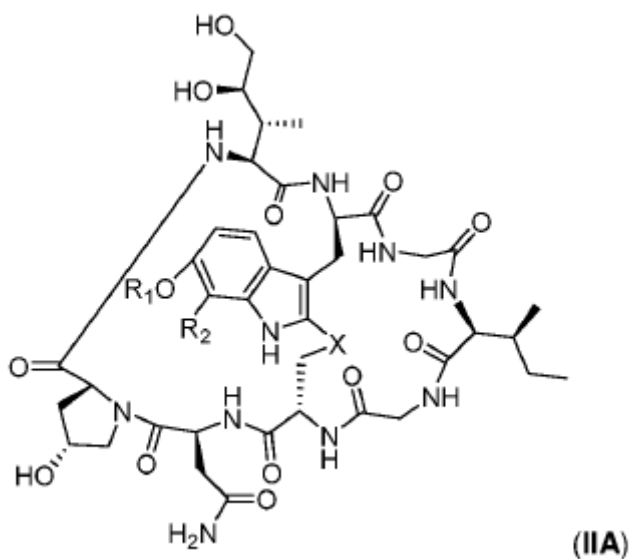
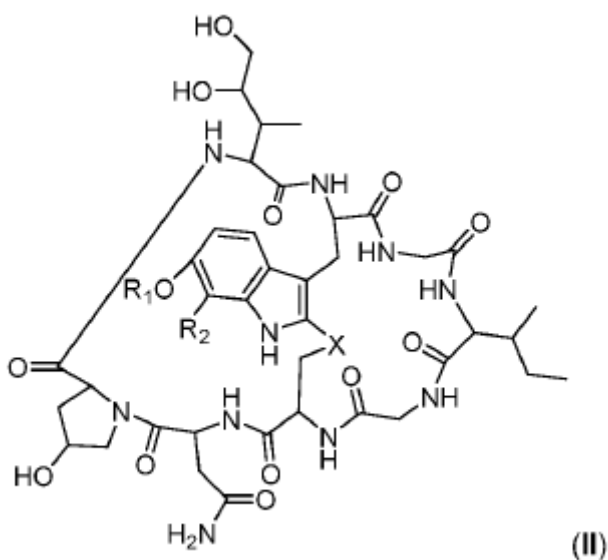
R_4 y R_5 son cada uno independientemente H u OH;

R_8 es OR_C o NHR_C ; y

25 R_9 es H u OH.

135. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 83-117, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo conjugado con una citotoxina se representa por la
30 fórmula $Ab-Z-L-Am$, en donde Ab es el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, Z es un resto químico, L es un

enlazador y Am es una amatoxina y el conjugado amatoxina-enlazador Am-L-Z se representa por la fórmula **(II)**, la fórmula **(IIA)** o la fórmula **(IIB)**



en donde X es S, SO o SO₂;

R₁ es H o un enlazador unido covalentemente al anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo a través de un resto

químico Z, formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en el enlazador y un sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo; y

- 5 R_2 es H o un enlazador unido covalentemente al anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo a través de un resto químico Z, formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en el enlazador y un sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo o
- 10 fragmento de unión a antígeno del mismo;

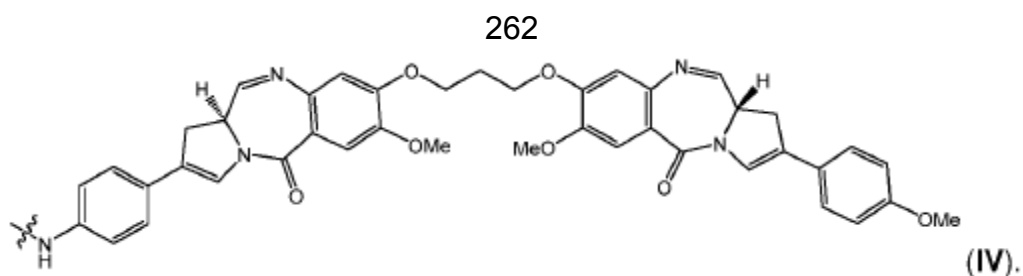
 en donde cuando R_1 es H, R_2 es el enlazador y cuando R_2 es H, R_1 es el enlazador.

136. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 83-
- 15 117, en donde la citotoxina es un maitansinoide seleccionado entre el grupo que consiste en DM1 y DM4.

137. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 83-
- 117, en donde la citotoxina es una auristatina monometil
- 20 auristatina E o monometil auristatina F.

138. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 83-
- 117, en donde la citotoxina es una antraciclina seleccionada entre el grupo que consiste en daunorrubicina, doxorubicina,
- 25 epirubicina e idarrubicina.

139. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 83-
- 117, en donde la citotoxina es un derivado de dímero de pirrolobenzodiacepina representado por la fórmula (IV)



140. Un conjugado representado por la fórmula Ab-Z-L-Cy, en donde Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a CD2, Z es un resto químico, L es un enlazador y Cy es una citotoxina, en donde la citotoxina se selecciona entre el grupo que consiste en exotoxina A de *Pseudomonas*, deBouganina, toxina diftérica, una amatoxina, saporina, maitansina, un maitansinoide, una auristatina, una antraciclina, una caliqueamicina, irinotecán, SN-38, una duocarmicina, una pirrolobenzodiacepina, un dímero de pirrolobenzodiacepina, una indolinobenzodiacepina y un dímero de indolinobenzodiacepina, o una variante de los mismos.

141. El conjugado de la reivindicación 140, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es producido por la estirpe celular de hibridoma ATCC HB 11423.

142. El conjugado de la reivindicación 140, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, es

- i) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno del mismo, que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una CDR-H1 como se expone en la SEQ ID NO: 1; una CDR-H2 como se expone en la SEQ ID NO: 2; una CDR-H3 como se expone en la SEQ ID NO: 3; y que comprende una región variable de la cadena ligera que comprende una CDR-L1 como se expone en la SEQ ID NO: 4; una CDR-L2 como se expone en la SEQ ID NO: 5; y una CDR-L3 como se expone en la SEQ ID NO: 6;

- ii) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno del mismo, que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una CDR-H1 como se expone en la SEQ ID NO: 14; una CDR-H2 como se expone en la SEQ ID NO: 15; una CDR-H3 como se expone en la SEQ ID NO: 16 o 17; y que comprende una región variable de la cadena ligera que comprende una CDR-L1 como se expone en la SEQ ID NO: 18; una CDR-L2 como se expone en la SEQ ID NO: 19; y una CDR-L3 como se expone en la SEQ ID NO: 20;
- iii) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno del mismo, que comprende una región variable de la cadena pesada como se expone en la SEQ ID NO: 7 y que comprende una región variable de la cadena ligera como se expone en la SEQ ID NO: 8;
- iv) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno del mismo, que comprende una región variable de la cadena pesada como se expone en la SEQ ID NO: 9 y que comprende una región variable de la cadena ligera como se expone en la SEQ ID NO: 10; o
- v) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno del mismo, que comprende una región variable de la cadena pesada como se expone en la SEQ ID NO: 21 o 22 y que comprende una región variable de la cadena ligera como se expone en la SEQ ID NO: 23.

25

143. El conjugado de la reivindicación 140, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo inhibe de manera competitiva la unión de CD2 a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la reivindicación 142.

30

144. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones

140-143, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se selecciona entre el grupo que consiste en un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo biespecífico, un dominio de
 5 inmunoglobulina de doble variable, una molécula Fv monocatenaria (scFv), un diacuerpo, un triacuerpo, un nanocuerpo, un armazón proteínico similar a anticuerpo, un fragmento Fv, un fragmento Fab, una molécula F(ab')₂ y un tándem di-scFv.

10

145. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 140-143, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es un anticuerpo humanizado o fragmento de unión a antígeno del mismo.

15

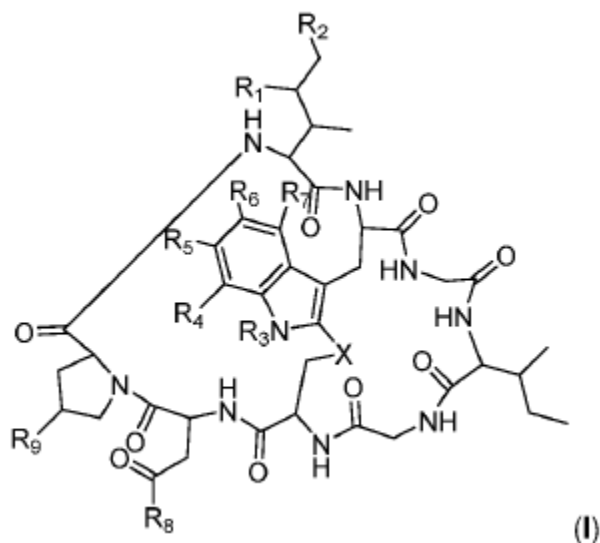
146. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 140-145, en donde el anticuerpo tiene un isotipo seleccionado entre el grupo que consiste en IgG, IgA, IgM, IgD e IgE.

20

147. El conjugado de la reivindicación 146, en donde la IgG es IgG1 o IgG4.

25

148. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 140-146, en donde Cy es una amatoxina (Am) representada por la fórmula (I)



en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

R_A y R_B , cuando están presentes, junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente sustituido;

R_3 es H, R_C o R_D ;

R_4 , R_5 , R_6 y R_7 son cada uno independientemente H, OH, OR_C , OR_D , R_C o R_D ;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C o NR_CR_D ;

R_9 es H, OH, OR_C u OR_D ;

X es $-S-$, $-S(O)-$ o $-SO_2-$;

R_C es $-L-Z$;

R_D es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, alquenilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquenilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, alquinilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquinilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido;

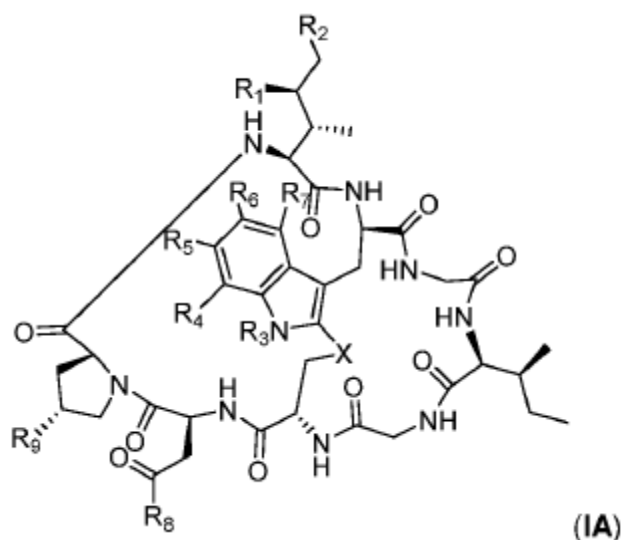
L es alquilenilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilenilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, alquilenilo C_2-

C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquenileno C₂-C₆ opcionalmente sustituido, alquinileno C₂-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquinileno C₂-C₆ opcionalmente sustituido, cicloalquileno opcionalmente sustituido, heterocicloalquileno
 5 opcionalmente sustituido, arileno opcionalmente sustituido o heteroarileno opcionalmente sustituido, un dipéptido, -C(=O)-, un péptido o una combinación de los mismos; y

Z es un resto químico formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en L y un
 10 sustituyente reactivo presente en el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo,

en donde Am comprende exactamente un sustituyente R_C.

149. El conjugado de la reivindicación 148, en donde Am es una
 15 amatoxina representada por la fórmula (IA).



en donde R₁ es H, OH, OR_A u OR_C;

R₂ es H, OH, OR_B u OR_C;

R_A y R_B, cuando están presentes, junto con los átomos de
 20 oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente sustituido;

R₃ es H, R_C o R_D;

R₄, R₅, R₆ y R₇ son cada uno independientemente H, OH, OR_C,

OR_D , R_C o R_D ;

R_8 es OH , NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C o NR_CR_D ;

R_9 es H , OH , OR_C u OR_D ;

X es $-S-$, $-S(O)-$ o $-SO_2-$;

5 R_C es $-L-Z$;

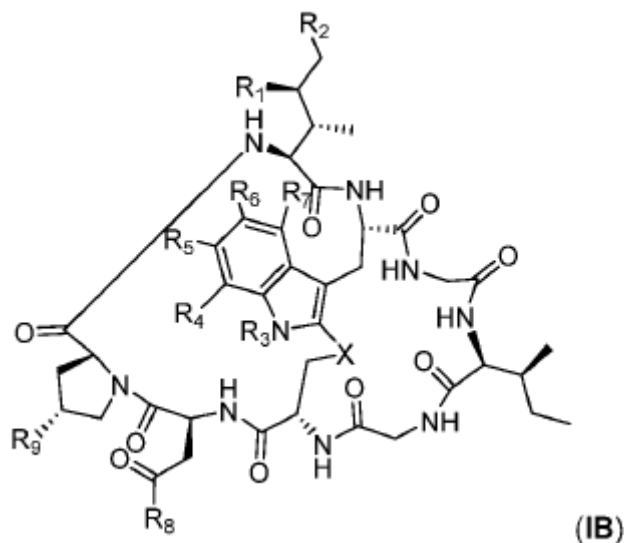
R_D es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, alquenilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquenilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, alquinilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquinilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, cicloalquilo opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido;

10 L es alquilenio C_1-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilenio C_1-C_6 opcionalmente sustituido, alquilenio C_2-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquilenio C_2-C_6 opcionalmente sustituido, alquinilenio C_2-C_6 opcionalmente sustituido, heteroalquinilenio C_2-C_6 opcionalmente sustituido, cicloalquilenio opcionalmente sustituido, heterocicloalquilenio opcionalmente sustituido, arilenio opcionalmente sustituido, heteroarilenio opcionalmente sustituido, un dipéptido, $-(C=O)-$, un péptido o una combinación de los mismos;

15 Z es un resto químico formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en L y un sustituyente reactivo presente en el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo; y

20 en donde Am comprende exactamente un sustituyente R_C .

150. El conjugado de la reivindicación 148, en donde Am es una amatoxina representada por la fórmula (**IB**).



en donde R_1 es H, OH, OR_A u OR_C ;

R_2 es H, OH, OR_B u OR_C ;

R_A y R_B , cuando están presentes, junto con los átomos de
 5 oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un
 grupo heterocicloalquilo de 5 miembros opcionalmente
 sustituido;

R_3 es H, R_C o R_D ;

R_4 , R_5 , R_6 y R_7 son cada uno independientemente H, OH, OR_C ,
 10 OR_D , R_C o R_D ;

R_8 es OH, NH_2 , OR_C , OR_D , NHR_C o NR_CR_D ;

R_9 es H, OH, OR_C u OR_D ;

X es $-S-$, $-S(O)-$ o $-SO_2-$;

R_C es $-L-Z$;

15 R_D es alquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido,
 heteroalquilo C_1-C_6 opcionalmente sustituido, alquenilo C_2-C_6
 opcionalmente sustituido, heteroalquenilo C_2-C_6 opcionalmente
 sustituido, alquinilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido,
 heteroalquinilo C_2-C_6 opcionalmente sustituido, cicloalquilo
 20 opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo opcionalmente
 sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo
 opcionalmente sustituido;

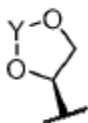
L es alquilenio C_1-C_6 opcionalmente sustituido,
 heteroalquilenio C_1-C_6 opcionalmente sustituido, alquilenio C_2-

C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquenileno C₂-C₆ opcionalmente sustituido, alquinileno C₂-C₆ opcionalmente sustituido, heteroalquinileno C₂-C₆ opcionalmente sustituido, cicloalquileno opcionalmente sustituido, heterocicloalquileno
 5 opcionalmente sustituido, arileno opcionalmente sustituido, heteroarileno opcionalmente sustituido, un dipéptido, -C(=O)-, un péptido o una combinación de los mismos; y

Z es un resto químico formado a partir de una reacción de acoplamiento entre un sustituyente reactivo presente en L y un
 10 sustituyente reactivo presente en el anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo,

en donde Am comprende exactamente un sustituyente R_C.

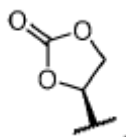
151. El conjugado de la reivindicación 149 o 150, en donde R_A
 15 y R_B, junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar un grupo heterocicloalquilo de 5 miembros de fórmula:



en donde Y es -C(=O)-, -C(=S)-, -C(=NR_E)- o -C(R_ER_E')-; y
 20 y

R_E y R_E' son cada uno independientemente alquileno C₁-C₆-R_C opcionalmente sustituido, heteroalquileno C₁-C₆-R_C opcionalmente sustituido, alquenileno C₂-C₆-R_C opcionalmente sustituido, heteroalquenileno C₂-C₆-R_C opcionalmente sustituido, alquinileno C₂-C₆-R_C opcionalmente sustituido, heteroalquinileno C₂-C₆-R_C opcionalmente sustituido, cicloalquileno-R_C opcionalmente sustituido, heterocicloalquileno-R_C opcionalmente sustituido, arileno-R_C opcionalmente sustituido o heteroarileno-R_C opcionalmente
 25 sustituido.
 30

152. El conjugado de la reivindicación 151, en donde R_A y R_B , junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar:

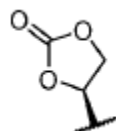


5

153. El conjugado de la reivindicación 149 o 150, en donde R_1 es H, OH u OR_A ;

R_2 es H, OH u OR_B ;

10 R_A y R_B , junto con los átomos de oxígeno a los que están unidos, se combinan para formar:



R_3 , R_4 , R_6 y R_7 son cada uno H;

R_5 es OR_C ;

15 R_8 es OH o NH_2 ; y

R_9 es H u OH.

154. El conjugado de la reivindicación 149 o 150, en donde R_1 y R_2 son cada uno independientemente H u OH;

20 R_3 es R_C ;

R_4 , R_6 y R_7 son cada uno H;

R_5 es H, OH u O-alquilo C_1-C_6 ;

R_8 es OH o NH_2 ; y

R_9 es H u OH.

25

155. El conjugado de la reivindicación 149 o 150, en donde R_1 y R_2 son cada uno independientemente H u OH;

R_3 , R_6 y R_7 son cada uno H;

R_4 y R_5 son cada uno independientemente H, OH, OR_C o R_C ;

R_8 es OH o NH_2 ; y

R_9 es H u OH.

5 156. El conjugado de la reivindicación 149 o 150, en donde R_1 y R_2 son cada uno independientemente H u OH;

R_3 , R_6 y R_7 son cada uno H;

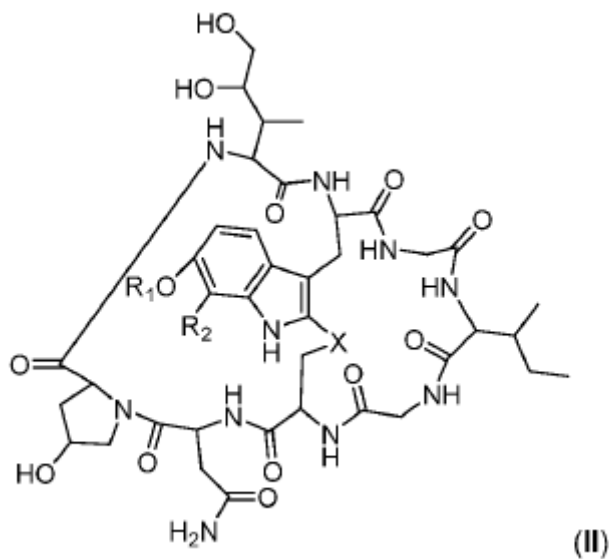
R_4 y R_5 son cada uno independientemente H u OH;

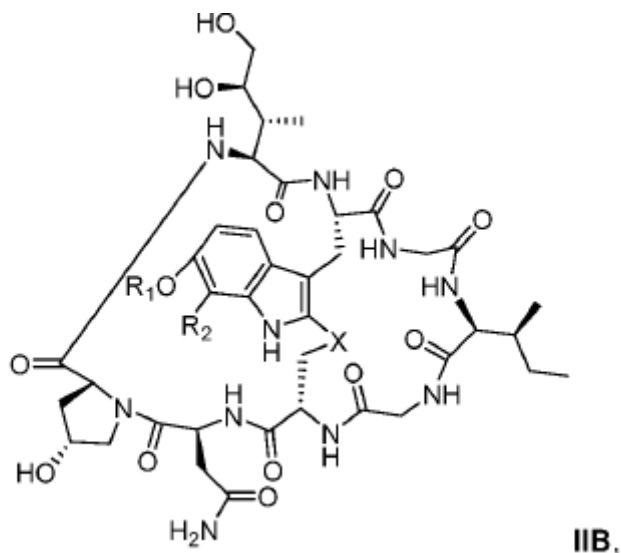
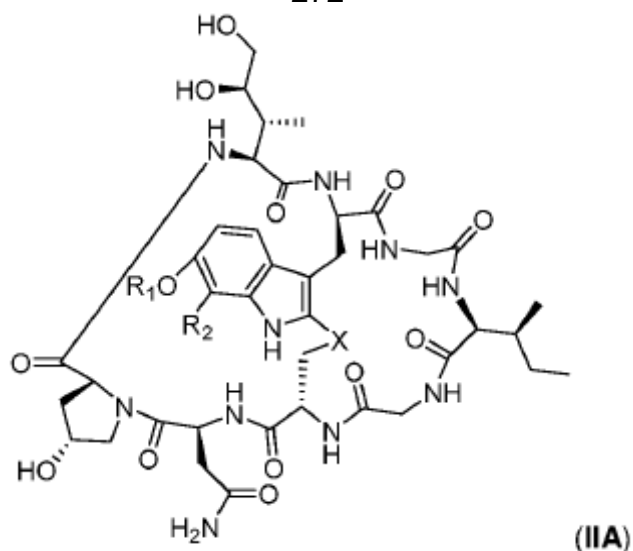
R_8 es OR_C o NHR_C ; y

10 R_9 es H u OH.

157. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 140-146, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo conjugado con una citotoxina se representa por la fórmula

15 Ab-Z-L-Am, en donde Ab es el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, Z es un resto químico, L es un enlazador y Am es una amatoxina y el conjugado amatoxina-enlazador Am-L-Z se representa por la fórmula (II), la fórmula (IIA) o la fórmula (IIB)





en donde X es S, SO o SO₂;

R₁ es H o un enlazador unido covalentemente al anticuerpo
 5 o fragmento de unión a antígeno del mismo a través de un resto
 químico Z, formado a partir de una reacción de acoplamiento
 entre un sustituyente reactivo presente en el enlazador y un
 sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo o
 fragmento de unión a antígeno del mismo; y

10 R₂ es H o un enlazador unido covalentemente al anticuerpo
 o fragmento de unión a antígeno del mismo a través de un resto
 químico Z, formado a partir de una reacción de acoplamiento
 entre un sustituyente reactivo presente en el enlazador y un
 sustituyente reactivo presente dentro de un anticuerpo o
 15 fragmento de unión a antígeno del mismo;

en donde cuando R₁ es H, R₂ es el enlazador y cuando R₂ es
 H, R₁ es el enlazador.

158. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 140-146, en donde Cy es un maitansinoide seleccionado entre el grupo que consiste en DM1 y DM4.

5

159. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 140-146, en donde Cy es una auristatina.

10

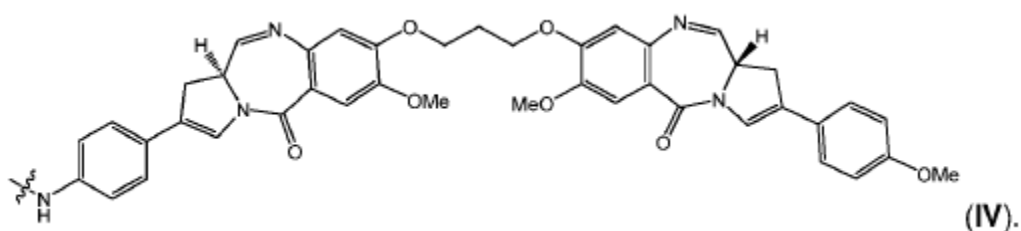
160. El conjugado de la reivindicación 159, en donde la auristatina es monometil auristatina E y monometil auristatina F.

15

161. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 140-146, en donde Cy es una antraciclina seleccionada entre el grupo que consiste en daunorrubicina, doxorubicina, epirubicina e idarrubicina.

20

162. El conjugado de una cualquiera de las reivindicaciones 140-146, en donde Cy es un derivado de dímero de pirrolobenzodiacepina representado por la fórmula (IV)



25

163. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 140-146, en donde la Cy es un inhibidor de la ARN polimerasa.

164. El método de la reivindicación 163, en donde el inhibidor de ARN polimerasa es un inhibidor de ARN polimerasa II.

165. El método de la reivindicación 164, en donde el inhibidor de ARN polimerasa II es amatoxina.

166. Una composición farmacéutica que comprende el conjugado
5 de una cualquiera de las reivindicaciones 140-165 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

167. La composición farmacéutica de la reivindicación 166, en donde la composición farmacéutica se formula para la
10 administración transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraocular, intratumoral, parenteral, intratecal o intracerebroventricular a un paciente humano.

168. La composición farmacéutica de la reivindicación 166, en
15 donde la composición farmacéutica se formula para la administración intravenosa a un paciente humano.

169. Un método para agotar una población de células CD2+ en un paciente humano, comprendiendo el método administrar al
20 paciente una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo.

170. Un método para agotar una población de células CD2+ en un paciente humano que necesite un trasplante de células madre
25 hematopoyéticas, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo.

171. Un método para prevenir el rechazo de un injerto de
30 células madre hematopoyéticas en un paciente humano que necesite un trasplante de células madre hematopoyéticas,

comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD2, o fragmento de unión a antígeno del mismo, antes de que el paciente humano reciba un trasplante que comprende células madre hematopoyéticas.

5

172. Un método para agotar una población de células CD2+ en un paciente humano que necesite un trasplante de células madre hematopoyéticas, comprendiendo el método administrar al paciente una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD2, o
10 fragmento de unión a antígeno del mismo, antes de que el paciente reciba un trasplante que comprenda células madre hematopoyéticas.

173. Un método que comprende administrar a un paciente humano
15 un trasplante que comprende células madre hematopoyéticas, en donde al paciente se le ha administrado anteriormente un anticuerpo anti-CD2 o fragmento de unión a antígeno del mismo, en una cantidad suficiente para agotar una población de células CD2+ en el paciente.

20

174. Un método que comprende:

- a. administrar a un paciente humano un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a CD2 en una cantidad suficiente para agotar una población de
25 células CD2+ en el paciente; y
- b. posteriormente administrar al paciente un trasplante que comprende células madre hematopoyéticas.

175. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-
30 174, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es producido por la estirpe celular de hibridoma ATCC

HB 11423.

176. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-
174, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno
5 del mismo comprende un conjunto de CDR de región variable de
la cadena pesada (CDR1, CDR2 y CDR3) y un conjunto de CDR de
región variable de la cadena ligera (CDR1, CDR2 y CDR3) de
anticuerpo LO-CD2A producido por la estirpe celular de
hibridoma que tiene el número de acceso de ATCC HB 11423.

10

177. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-
174, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno
del mismo, es

i) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno del
15 mismo, que comprende una región variable de la cadena
pesada que comprende una CDR-H1 como se expone en la SEQ
ID NO: 1; una CDR-H2 como se expone en la SEQ ID NO: 2;
una CDR-H3 como se expone en la SEQ ID NO: 3; y que
comprende una región variable de la cadena ligera que
20 comprende una CDR-L1 como se expone en la SEQ ID NO: 4;
una CDR-L2 como se expone en la SEQ ID NO: 5; y una CDR-L3
como se expone en la SEQ ID NO: 6;

ii) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno
del mismo, que comprende una región variable de la cadena
25 pesada que comprende una CDR-H1 como se expone en la SEQ
ID NO: 14; una CDR-H2 como se expone en la SEQ ID NO: 15;
una CDR-H3 como se expone en la SEQ ID NO: 16 o 17; y que
comprende una región variable de la cadena ligera que
comprende una CDR-L1 como se expone en la SEQ ID NO: 18;
30 una CDR-L2 como se expone en la SEQ ID NO: 19; y una CDR-
L3 como se expone en la SEQ ID NO: 20;

iii) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno

del mismo, que comprende una región variable de la cadena

pesada como se expone en la SEQ ID NO: 7 y que comprende

una región variable de la cadena ligera como se expone en

5 la SEQ ID NO: 8;

iv) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno

del mismo, que comprende una región variable de la cadena

pesada como se expone en la SEQ ID NO: 9 y que comprende

una región variable de la cadena ligera como se expone en

10 la SEQ ID NO: 10; o

v) un anticuerpo anti-CD2, o parte de unión a antígeno del

mismo, que comprende una región variable de la cadena

pesada como se expone en la SEQ ID NO: 21 o 22 y que

comprende una región variable de la cadena ligera como se

15 expone en la SEQ ID NO: 23.

178. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-

174, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno

del mismo, inhibe de manera competitiva la unión de CD2 a un

20 anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la
reivindicación 177.

179. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-

178, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno

25 del mismo se selecciona entre el grupo que consiste en un

anticuerpo monoclonal o fragmento de unión a antígeno del

mismo, un anticuerpo policlonal o fragmento de unión a antígeno

del mismo, un anticuerpo humanizado o fragmento de unión a

antígeno del mismo, un anticuerpo biespecífico o fragmento de

30 unión a antígeno del mismo, un anticuerpo intacto, un dominio

de inmunoglobulina de doble variable, una molécula Fv

monocatenaria (scFv), un diacuerpo, un triacuerpo, un nanocuerpo, un armazón proteínico similar a anticuerpo, un fragmento Fv, un fragmento Fab, una molécula F(ab')₂ y un tándem di-scFv.

5

180. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-179, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es un anticuerpo humanizado o fragmento de unión a antígeno del mismo.

10

181. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-180, en donde el anticuerpo tiene un isotipo seleccionado entre el grupo que consiste en IgG, IgA, IgM, IgD e IgE.

15

182. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-181, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es internalizado por una célula inmunitaria después de la administración al paciente.

20

183. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-182, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es capaz de promover la necrosis de una célula inmunitaria.

25

184. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-183, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es capaz de reclutar una o más proteínas del complemento a una célula inmunitaria tras la administración al paciente.

30

185. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 182-

184, en donde la célula inmunitaria se selecciona entre el grupo que consiste en un linfocito T y linfocito NK.

186. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 171-
5 174, en donde el trasplante que comprende células madre hematopoyéticas se administra al paciente después de que la concentración del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se haya eliminado sustancialmente de la sangre del paciente.

10

187. El método de la reivindicación 186, en donde el trasplante que comprende células madre hematopoyéticas se administra al paciente entre 1 hora y 7 días después de que la concentración del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se
15 haya eliminado sustancialmente de la sangre del paciente.

188. El método de la reivindicación 186, en donde el trasplante que comprende células madre hematopoyéticas se administra al paciente entre 6 horas y 3 días después de que la concentración
20 del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se haya eliminado sustancialmente de la sangre del paciente.

189. El método de la reivindicación 186, en donde el trasplante que comprende células madre hematopoyéticas se administra al
25 paciente entre 12 horas y 36 horas después de que la concentración del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se haya eliminado sustancialmente de la sangre del paciente.

30

190. El método de la reivindicación 186, en donde el trasplante que comprende células madre hematopoyéticas se administra al

paciente 24 horas después de que la concentración del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se haya eliminado sustancialmente de la sangre del paciente.

5 191. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 171-174, en donde las células madre hematopoyéticas o la progenie de las mismas mantienen el potencial funcional de células madre hematopoyéticas después de dos o más días tras el trasplante de las células madre hematopoyéticas al paciente.

10

192. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-174, en donde las células madre hematopoyéticas son autólogas con respecto al paciente.

15 193. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-174, en donde las células madre hematopoyéticas son alogénas con respecto al paciente.

194. El método de la reivindicación 193, en donde las células
20 madre hematopoyéticas coinciden en HLA con respecto al paciente.

195. El método de la reivindicación 193, en donde las células madre hematopoyéticas no coinciden en HLA con respecto al
25 paciente.

196. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-174, en donde la población de células CD2+ comprende linfocitos T.

30

197. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-

174, en donde las células madre hematopoyéticas o la progenie de las mismas son capaces de ubicarse en el tejido hematopoyético y/o restablecer la hematopoyesis después del trasplante de las células madre hematopoyéticas al paciente.

5

198. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-174, en donde tras el trasplante al paciente, las células madre hematopoyéticas originan la recuperación de una población de células seleccionada entre el grupo que consiste en
10 megacariocitos, trombocitos, plaquetas, eritrocitos, mastocitos, mioblastos, basófilos, neutrófilos, eosinófilos, microglía, granulocitos, monocitos, osteoclastos, células presentadoras de antígenos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos citolíticos naturales, linfocitos T y linfocitos B.

15

199. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-198, en donde el paciente padece un trastorno de células madre.

20

200. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-199, en donde el paciente padece un trastorno de hemoglobinopatía.

25

201. El método de la reivindicación 200, en donde el trastorno de hemoglobinopatía se selecciona entre el grupo que consiste
en anemia falciforme, talasemia, anemia de Fanconi, anemia aplásica y síndrome de Wiskott-Aldrich.

30

202. El método de la reivindicación 200, en donde el trastorno de hemoglobinopatía se selecciona entre el grupo que consiste
en anemia de Fanconi, anemia aplásica, anemia de células falciformes y talasemia.

203. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-174, en donde el paciente padece un trastorno mielodisplásico o un trastorno de inmunodeficiencia.

5

204. El método de la reivindicación 203, en donde el trastorno de inmunodeficiencia es una inmunodeficiencia congénita o una inmunodeficiencia adquirida.

10

205. El método de la reivindicación 204, en donde la inmunodeficiencia adquirida es el virus de inmunodeficiencia humana o el síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

15

206. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-205, en donde el paciente padece un trastorno metabólico.

20

207. El método de la reivindicación 206, en donde el trastorno metabólico se selecciona entre el grupo que consiste en enfermedades de almacenamiento de glucógeno, mucopolisacaridoses, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Hurler, esfingolipidosis y leucodistrofia metacromática.

25

208. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-207, en donde el paciente padece cáncer.

209. El método de la reivindicación 208, en donde el cáncer se selecciona entre el grupo que consiste en leucemia, linfoma, mieloma múltiple y neuroblastoma.

30

210. El método de la reivindicación 208, en donde el cáncer es un cáncer hemático.

211. El método de la reivindicación 208, en donde el cáncer es leucemia mieloide aguda.

5 212. El método de la reivindicación 208, en donde el cáncer es leucemia linfoide aguda.

213. El método de la reivindicación 208, en donde el cáncer es leucemia mieloide crónica.

10

214. El método de la reivindicación 208, en donde el cáncer es leucemia linfoide crónica.

15

215. El método de la reivindicación 208, en donde el cáncer es mieloma múltiple.

216. El método de la reivindicación 208, en donde el cáncer es linfoma difuso de linfocitos B grandes.

20

217. El método de la reivindicación 208, en donde el cáncer es linfoma no Hodgkin.

25

218. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-174, en donde el paciente padece un trastorno seleccionado entre el grupo que consiste en deficiencia de adenosina desaminasa e inmunodeficiencia combinada grave, síndrome de hiper inmunoglobulina M, enfermedad de Chediak-Higashi, linfohistiocitosis hereditaria, osteopetrosis, osteogénesis imperfecta, enfermedades de almacenamiento, talasemia mayor, esclerosis sistémica, lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide juvenil.

30

219. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-174, en donde el paciente padece un trastorno autoinmunitario.

- 5 220. El método de la reivindicación 219, en donde el trastorno autoinmunitario se selecciona entre el grupo que consiste en esclerosis múltiple, lupus sistémico humano, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, tratamiento de la psoriasis, diabetes mellitus de tipo 1, encefalomiелitis
- 10 diseminada aguda, enfermedad de Addison, alopecia universal, espondilitis anquilosante, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, anemia aplásica, anemia hemolítica autoinmunitaria, hepatitis autoinmunitaria, enfermedad autoinmunitaria del oído interno, síndrome linfoproliferativo
- 15 autoinmunitario, ooforitis autoinmunitaria, enfermedad de Balo, enfermedad de Behcet, penfigoide ampolloso, cardiomiopatía, enfermedad de Chagas, síndrome de disfunción inmunitaria por fatiga crónica, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica, enfermedad de Crohn, penfigoide
- 20 cicatricial, dermatitis herpética celiaca, enfermedad de crioaglutinina, síndrome CREST, enfermedad de Degos, lupus discoide, disautonomía, endometriosis, crioglobulinemia mixta esencial, fibromialgia-fibromiositis, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barré, tiroiditis
- 25 de Hashimoto, hidradenitis supurativa, púrpura trombocitopénica idiopática y/o aguda, fibrosis pulmonar idiopática, neuropatía por IgA, cistitis intersticial, artritis juvenil, enfermedad de Kawasaki, liquen plano, enfermedad de Lyme, enfermedad de Meniere, enfermedad mixta
- 30 del tejido conectivo, miastenia grave, neuromiotonía, síndrome de opsoclono mioclono, neuritis óptica, tiroiditis de Ord,

pénfigo vulgar, anemia perniciosa, policondritis, polimiositis y dermatomiositis, cirrosis biliar primaria, poliarteritis nodosa, síndromes poliglandulares, polimialgia reumática, agammaglobulinemia primaria, fenómeno de Raynaud, síndrome de

5 Reiter, fiebre reumática, sarcoidosis, esclerodermia, síndrome de Sjögren, síndrome de persona rígida, arteritis de Takayasu, arteritis temporal, colitis ulcerosa, uveítis, vasculitis, vitíligo, vulvodinia y granulomatosis de Wegener.

10 221. El método de la reivindicación 219, en donde el trastorno autoinmunitario es esclerodermia.

222. El método de la reivindicación 219, en donde el trastorno autoinmunitario es esclerosis múltiple.

15

223. El método de la reivindicación 219, en donde el trastorno autoinmunitario es colitis ulcerosa.

20

224. El método de la reivindicación 219, en donde el trastorno autoinmunitario es enfermedad de Crohn.

225. El método de la reivindicación 219, en donde el trastorno autoinmunitario es diabetes de tipo 1.

25

226. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 169-174, en donde el método trata el trastorno o cáncer.

COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA EL AGOTAMIENTO DE CÉLULAS CD2+

5 La invención proporciona anticuerpos anti-CD2, fragmentos
de unión a antígeno de los mismos, y conjugados fármaco-
anticuerpo de los mismos, para su uso como agentes para tratar
un trastorno de células madre, cáncer o enfermedad
autoinmunitaria, entre otras enfermedades hemáticas y
10 proliferativas. Las composiciones y métodos descritos en el
presente documento pueden usarse para agotar poblaciones de
células CD2+, tales como células cancerosas CD2+ y células
inmunitarias CD2+, y pueden usarse para preparar a un paciente
para trasplante de células madre hematopoyéticas.

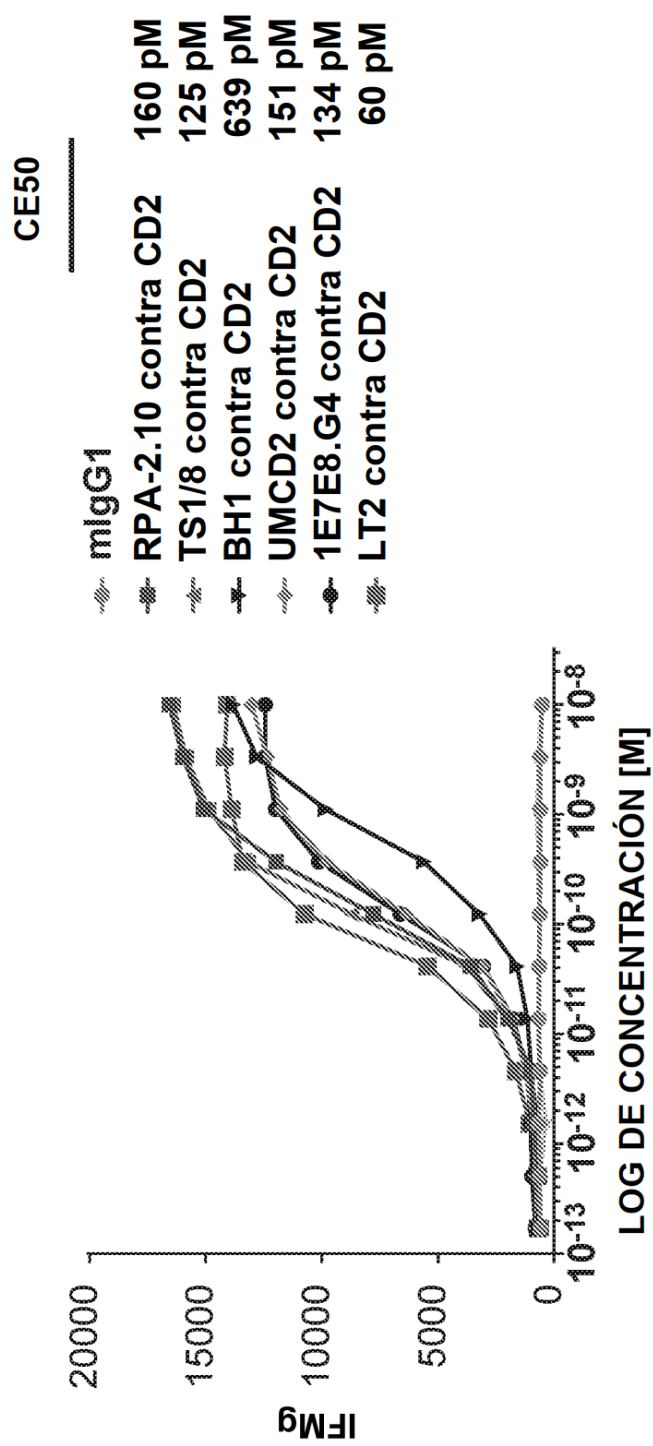


FIG. 1

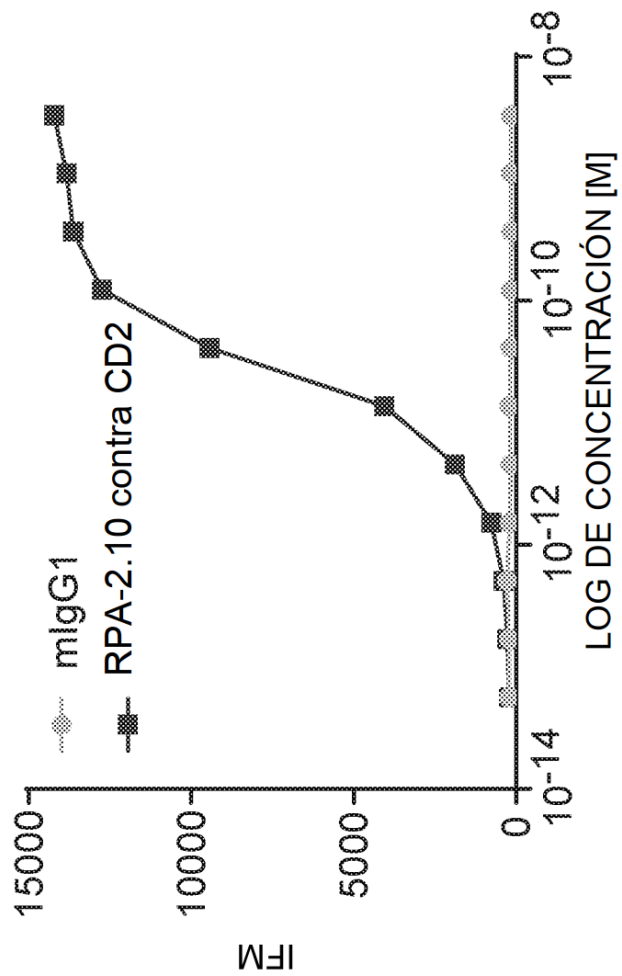


FIG. 2

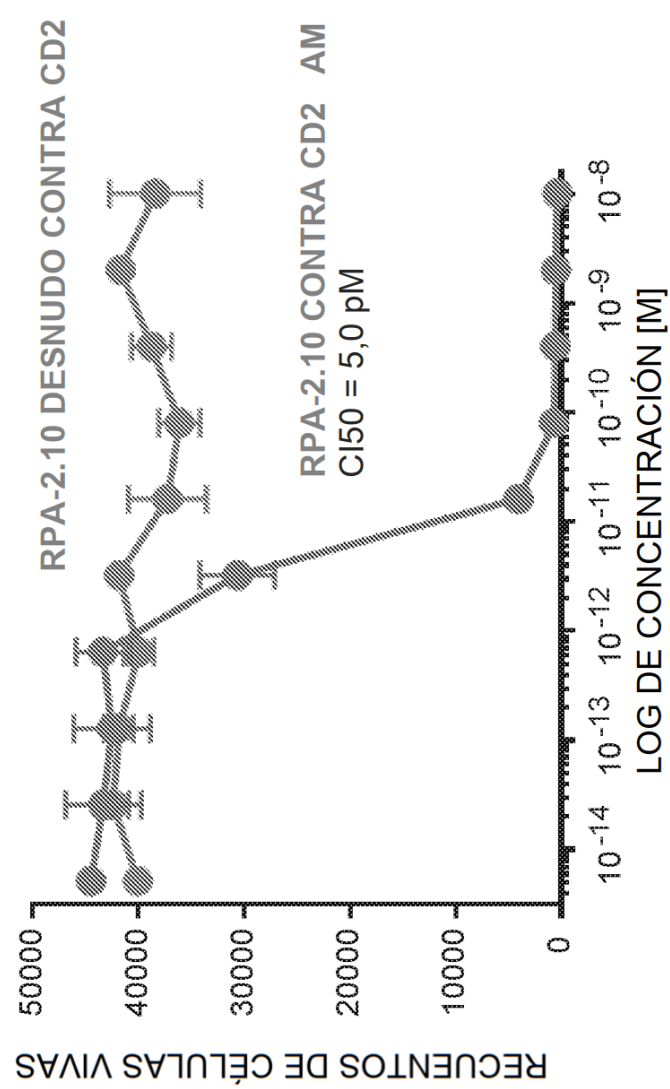


FIG. 3A

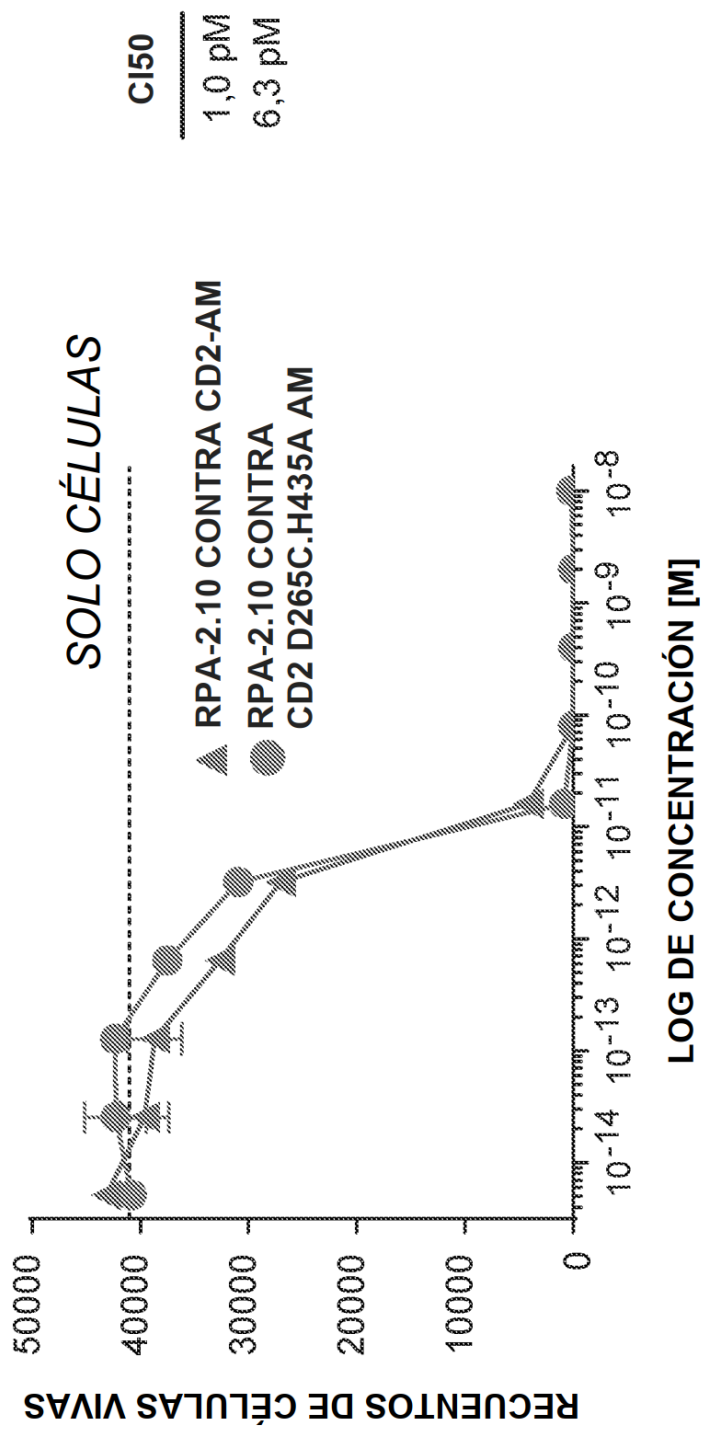


FIG. 3B

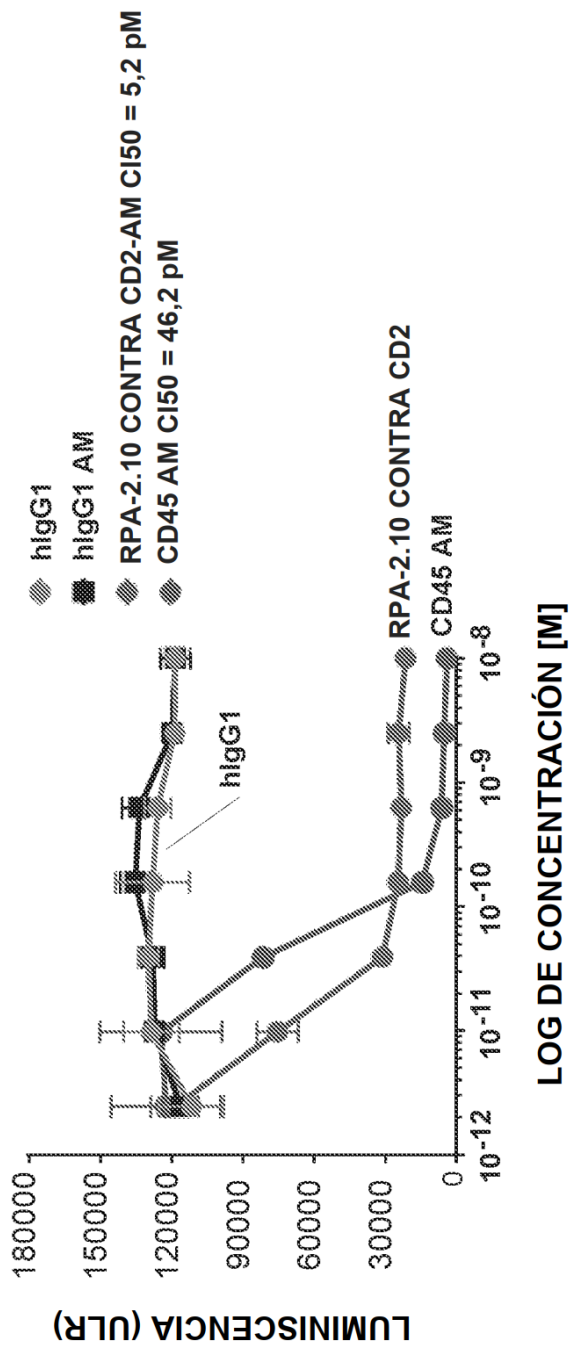


FIG. 4

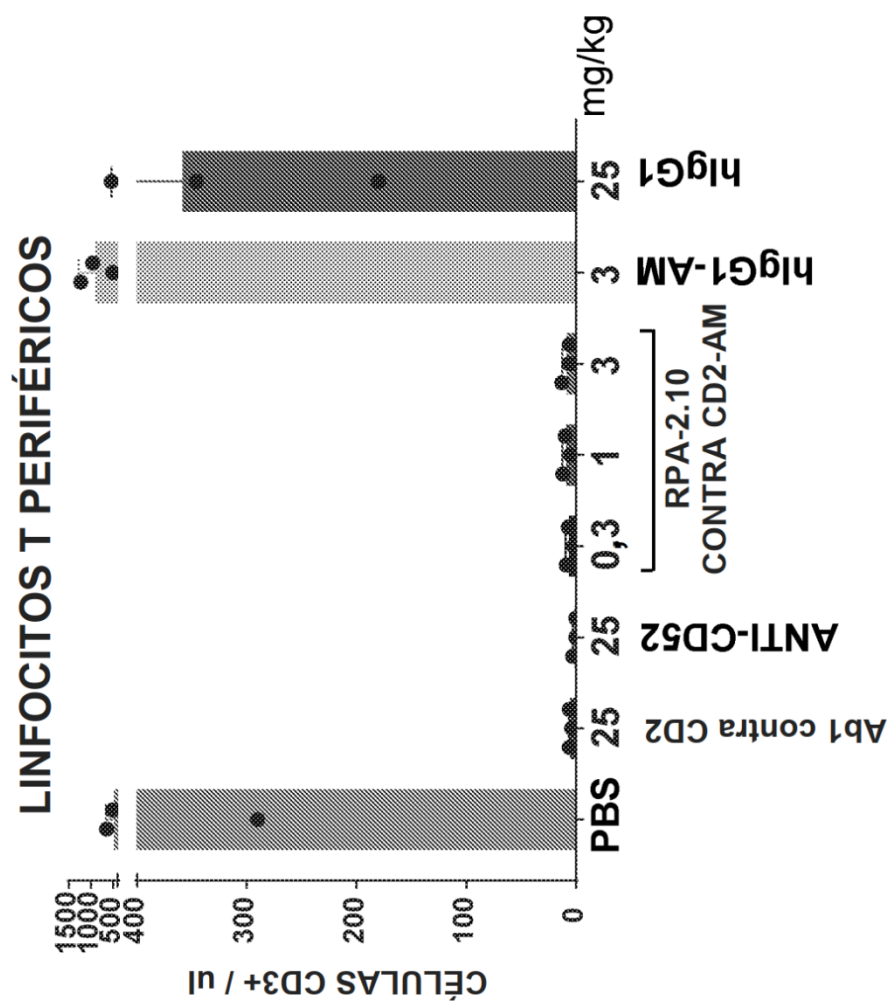


FIG. 5A

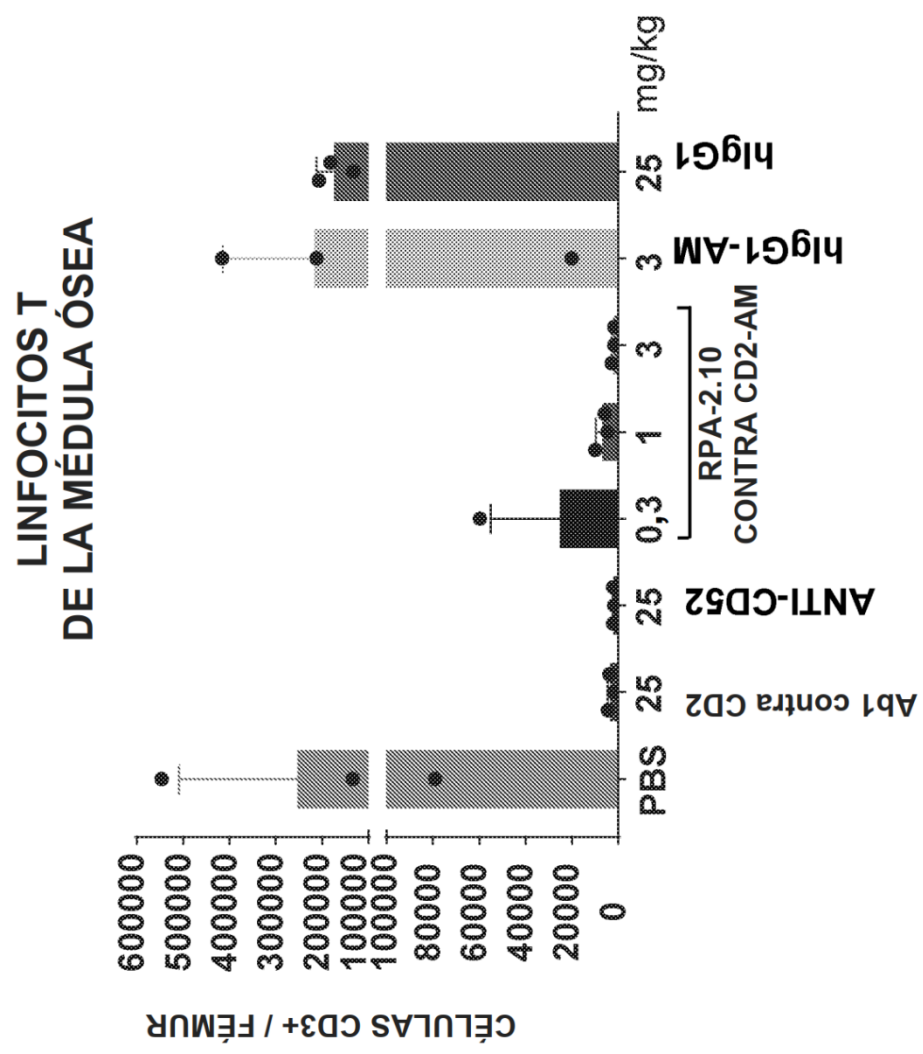


FIG. 5B

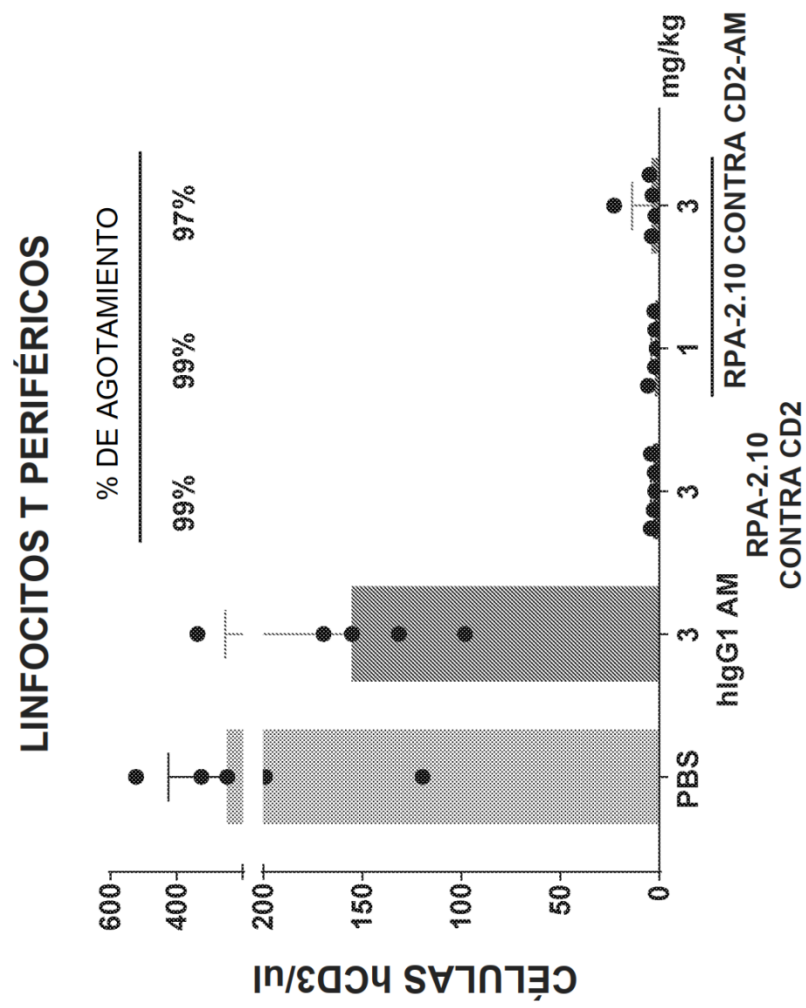


FIG. 6A

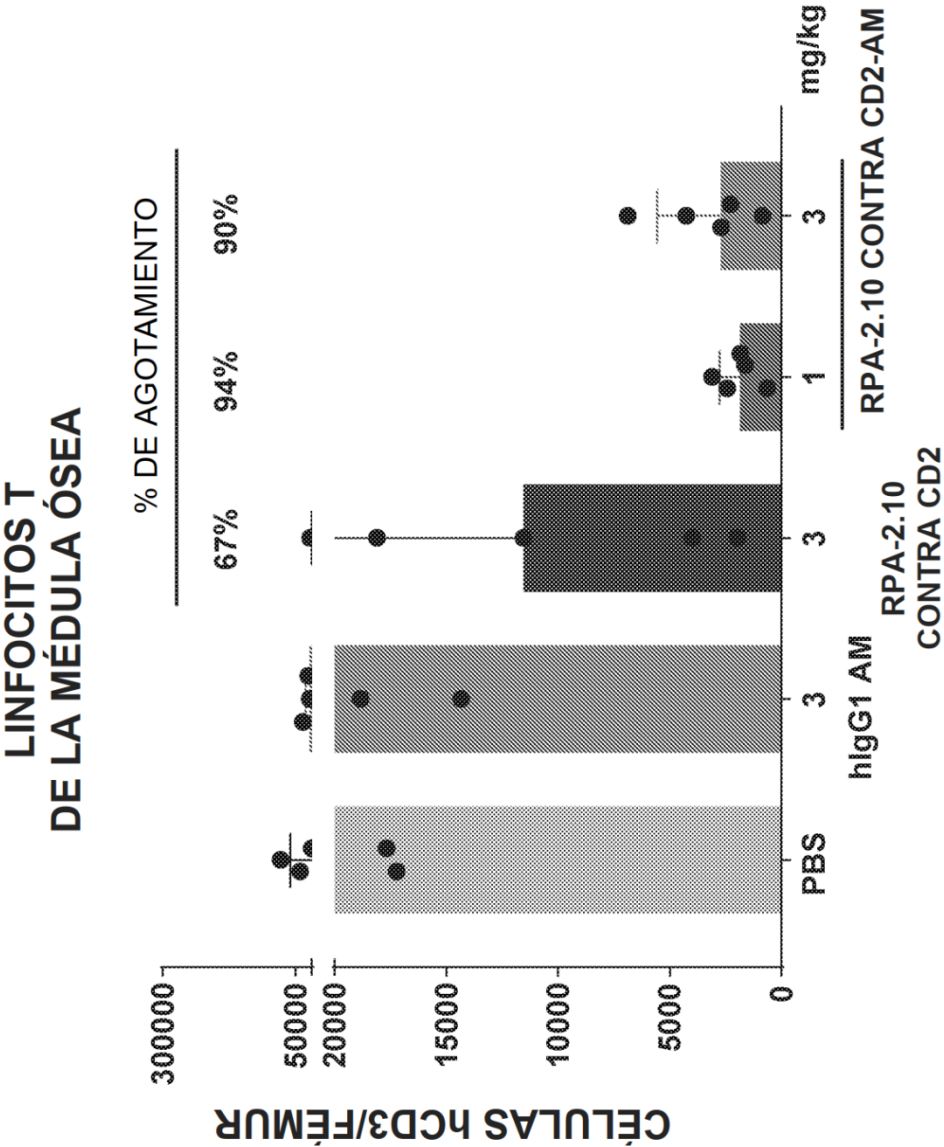


FIG. 6B

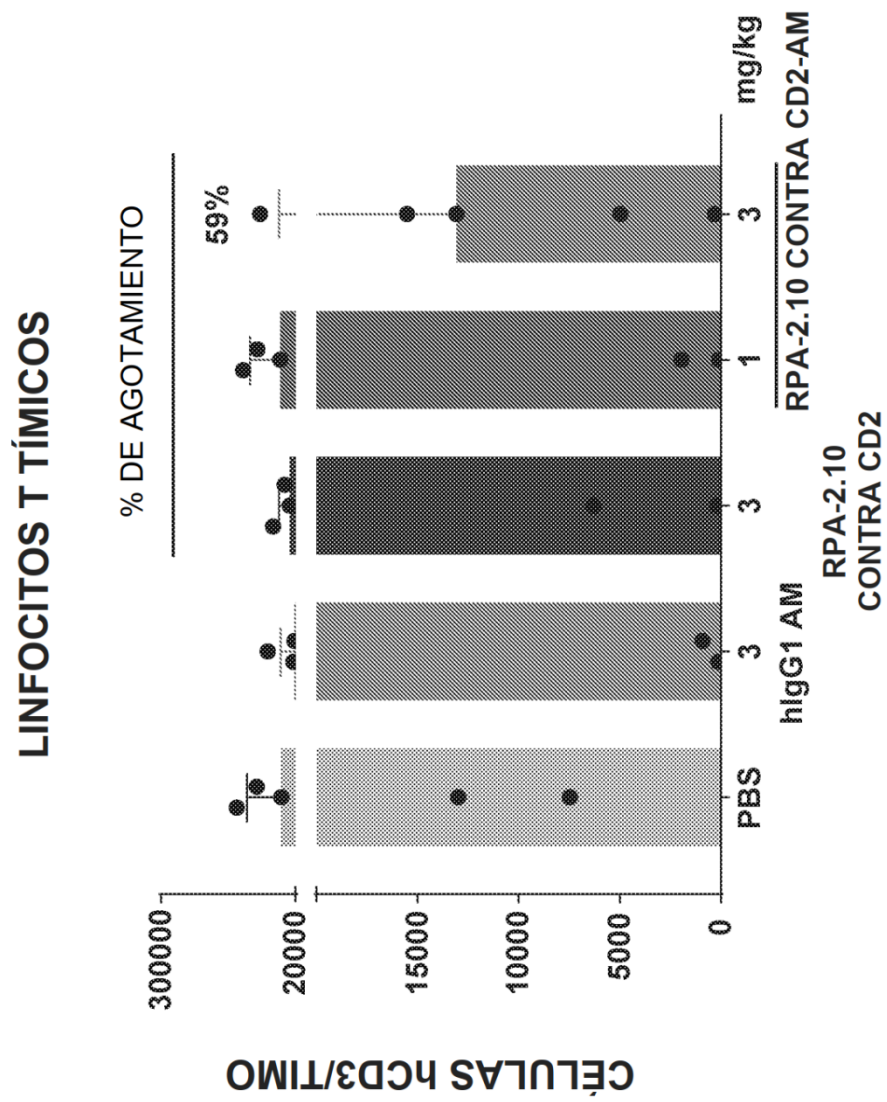


FIG. 6C