
CONSTRUCTOS DE ANTICUERPO BIESPECÍFICOS PARA PSMA Y CD3 QUE SE LIGAN A CÉLULAS T

ANTECEDENTES

[1] Las moléculas derivadas de anticuerpos biespecíficos tales como los constructos de anticuerpo BiTE® (*bispecific T cell engager*) son constructos de proteínas recombinantes preparados a partir de dos dominios de unión derivados de anticuerpos, ligados flexiblemente. Un dominio de unión de los constructos de anticuerpo BiTE® es específico para un antígeno de superficie sobre células diana seleccionado asociado a tumor; el segundo dominio de unión es específico para CD3, una subunidad del complejo de receptores de células T sobre células T. Por su diseño particular, los constructos de anticuerpo BiTE® son excepcionalmente adecuados para conectar transitoriamente células T con células diana y, al mismo tiempo, activar de manera potente el potencial citolítico de células T contra células diana. Un importante desarrollo adicional de la primera generación de constructos de anticuerpo BiTE® (ver WO 99/54440 y WO 2005/040220) desarrollados clínicamente como AMG 103 y AMG 110 fue la provisión de constructos de anticuerpo biespecíficos que se unen a un epítotope independiente de contexto en el extremo N-terminal de la cadena CD3 ϵ (WO 2008/119567). Los constructos de anticuerpo BiTE® que se unen a este epítotope elegido no solo muestran especificidad de especies cruzadas para la cadena CD3 ϵ humana y de *Callithrix jacchus*, *Saguinus oedipus* o *Saimiri sciureus*, sino también, debido a reconocer este epítotope específico (en lugar de los epítotos previamente descritos de ligantes a CD3 en moléculas biespecíficas que se ligan células T), no activan inespecíficamente células T en el mismo grado que se observa para la generación anterior de anticuerpos que se ligan a células T. Esta reducción en la activación de células T estaba conectada y está correlacionada con menor o reducida redistribución de células T en pacientes, estando identificado esto último como un riesgo de efectos secundarios.

[2] Los constructos de anticuerpo como se describen en WO 2008/119567 son proclives a sufrir una rápida eliminación del cuerpo; así, mientras son capaces de alcanzar la mayor parte del cuerpo rápidamente, y son rápidos de producir y fáciles de manipular, sus aplicaciones *in vivo* pueden estar limitadas por su breve persistencia *in vivo*. La administración prolongada mediante infusión intravenosa continua fue utilizada para lograr efectos terapéuticos a causa de la breve vida media *in vivo* de estas moléculas pequeñas, de cadena simple. Sin embargo, tales infusiones intravenosas continuas están clasificadas como inconvenientes para los pacientes y, así, en caso de estrategias de tratamientos alternativos más convenientes, dificultan la elección del compuesto que demostró ser más eficiente en el tratamiento de la respectiva enfermedad. Por ello existe la necesidad en el arte de agentes terapéuticos biespecíficos que retengan similar eficacia terapéutica, que tengan un formato

que sea simple de producir y que tengan propiedades farmacocinéticas favorables incluyendo una vida media más larga.

[3] Una vida media incrementada es generalmente útil en aplicaciones *in vivo* de inmunoglobulinas, especialmente anticuerpos y más especialmente fragmentos de anticuerpo de pequeño tamaño. Las estrategias descritas en el arte para lograr tal efecto comprenden la fusión del constructo de anticuerpo biespecífico pequeño con proteínas más grandes, las cuales preferiblemente no interfieran con el efecto terapéutico del BiTE®. Ejemplos de tales desarrollos adicionales de ligantes a células T biespecíficos comprenden moléculas Fc biespecíficas, por ej. descritas en US 2014/0302037, US 2014/0308285, WO 2014/144722, WO 2014/151910 y WO 2015/048272. Una estrategia alternativa es el uso de HSA fusionada a la molécula biespecífica o la mera fusión de péptidos de unión a albúmina humana (ver por ej. WO2013/128027, WO2014/140358).

[4] Se han identificado varios marcadores para cáncer de próstata, incluyendo por ej., el antígeno específico de próstata (PSA, por su sigla en inglés), el antígeno epitelial de seis dominios transmembrana de la próstata (STEAP, por su sigla en inglés) (Hubert et al., PNAS 96 (1999), 14523-14528), el antígeno de célula troncal de próstata (PSCA, por su sigla en inglés) (Reiter et al., Proc. Nat. Acad. Sci. 95: 1735-1740, 1998) y el antígeno de membrana específico de próstata (PSMA; PSM, por su sigla en inglés) (Israeli et al., Cancer Res. 53 (1993). El PSMA fue originalmente definido mediante el anticuerpo monoclonal (MAb) 7E11 derivado de la inmunización con una preparación de membrana parcialmente purificada de la línea celular de adenocarcinoma prostático de nódulo linfático (LNCaP, por su sigla en inglés) (Horoszewicz et al., Anticancer Res. 7 (1987), 927-35). Un fragmento de ADNc de 2,65-kb que codifica la proteína PSMA fue clonado y posteriormente mapeado en el cromosoma 11p11.2 (Israeli et al., loc. cit.; O'Keefe et al., Biochem. Biophys. Acta 1443 (1998), 113-127). El análisis inicial de PSMA demostró una expresión extendida dentro de las células del epitelio secretorio prostático. La tinción inmunohistoquímica demostró que el PSMA estaba ausente a moderadamente expresado en tejidos hiperplásicos y benignos, mientras que los tejidos malignos se teñían con la mayor intensidad (Horoszewicz et al., loc. cit.). Investigaciones posteriores han recapitulado estos resultados y puesto en evidencia la expresión de PSMA como una característica universal en prácticamente todos los tejidos prostáticos examinados hasta la fecha. Estos reportes demuestran además que la expresión de PSMA aumenta precipitadamente proporcional a la agresividad del tumor (Burger et al., Int. J. Cancer 100 (2002), 228-237; Chang et al., Cancer Res. 59 (1999), 3192-98; Chang et al., Urology 57 (2001), 1179-83), Kawakami y Nakayama, Cancer Res. 57 (1997), 2321-24; Liu et al., Cancer Res. 57 (1997), 3629-34; Lopes et al., Cancer Res. 50 (1990), 6423-29; Silver et al., Clin. Cancer Res. 9 (2003), 6357-62; Sweat et al., Urology 52 (1998), 637-40; Troyer et al., Int. J. Cancer 62 (1995), 552-558; Wright et al., Urology 48 (1996), 326-334). Consistente con la

correlación entre la expresión de PSMA y el estadio del tumor, los niveles incrementados de PSMA están asociados con el cáncer de próstata independiente de andrógeno (PCa). El análisis de muestras de tejido de pacientes con cáncer de próstata ha demostrado niveles de PSMA elevados luego de la castración física o de la terapia de privación de andrógenos.

5 Diferentemente a la expresión del antígeno específico de próstata, el cual es regulado negativamente luego de ablación de andrógeno, la expresión de PSMA está significativamente incrementada tanto en especímenes de tumor primario como metastásico (Kawakami et al., Wright et al., loc. cit.). Consistente con la expresión elevada en tumores independientes de andrógeno, se conoce también que la transcripción de PSMA está regulada negativamente
10 por esteroides, y la administración de testosterona media una reducción dramática en los niveles de proteína y ARNm de PSMA (Israeli et al., Cancer Res. 54 (1994), 1807-11; Wright et al., loc. cit.). El PSMA también está altamente expresado en tumores prostáticos secundarios y enfermedad metastásica oculta. El análisis inmunohistoquímico ha revelado una expresión relativamente intensa y homogénea de PSMA dentro de lesiones metastásicas
15 localizadas en los nódulos linfáticos, hueso, tejido blando y pulmones, en comparación con tejidos prostáticos benignos (Chang et al. (2001), loc. cit.; Murphy et al., Cancer 78 (1996), 809-818; Sweat et al., loc. cit.). Algunos reportes también han indicado una expresión limitada de PSMA en tejidos extraprostáticos, incluyendo un subconjunto de túbulos proximales renales, algunas células de la membrana intestinal con borde en cepillo, y células raras en las
20 criptas colónicas (Chang et al. (1999), Horoszewicz et al., Israeli et al. (1994), Lopes et al., Troyer et al., loc. cit.). No obstante, los niveles de PSMA en estos tejidos son generalmente de dos a tres órdenes de magnitud menores a aquellos observados en la próstata (Sokoloff et al., Prostate 43 (2000), 150-157). El PSMA también está expresado en la neovasculatura asociada a tumor de la mayoría de los cánceres sólidos examinados, aunque está ausente en
25 el endotelio vascular normal (Chang et al. (1999), Liu et al., Silver et al., loc. cit.). A pesar de que se desconoce la significancia de la expresión de PSMA dentro de la vasculatura, la especificidad para endotelio asociado a tumor hace a PSMA una diana potencial para el tratamiento de muchas formas de cáncer.

RESUMEN

30 **[5]** Todos los formatos de extensión de vida media (formatos HLE) de moléculas biespecíficas que se ligan a células T descriptas en el arte, las cuales incluyen el formato hétero Fc (también designadas como Fc heterodiméricas, hetFc o hFc) y la fusión de albúmina de suero humano (también designada como HSA o hALB), tenían desventajas individuales tales como activación inespecífica de células T, activación de complemento, inestabilidad, o
35 un perfil farmacocinético que no cumple la deseada prolongación de la vida media de las moléculas. Así, es el objeto de la presente invención, proveer un formato de extensión de la vida media de las moléculas biespecíficas que se ligan a células T, el cual supera al menos

uno y, por supuesto, preferiblemente más de uno de estos defectos individuales observados en las moléculas del estado del arte. Por consiguiente, la presente invención provee constructos de anticuerpo de una modalidad Fc específica caracterizados por comprender un primer dominio de unión a PSMA, un segundo dominio de unión que se une a un epítopo extracelular de la cadena CD3ε humana y de *Macaca*, y un tercer dominio, el cual es la modalidad Fc específica. Más aún, la invención provee un polinucleótido que codifica el constructo de anticuerpo, un vector que comprende este polinucleótido, células hospedadoras que expresan el constructo y una composición farmacéutica que comprende el mismo.

DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

[6] Figura 1: La FIG. 1a muestra un diagrama de una forma de realización de un constructo de anticuerpo de la invención. La Fig. 1b muestra un constructo de anticuerpo Fc heterodimérico y la Fig. 1c muestra un constructo de anticuerpo cruzado (*X-body*) descrito en el arte. Los pares cargados indicados son introducidos con el objeto de imponer la heterodimerización. La Fig. 1d muestra la fusión de un constructo de anticuerpo con una albúmina de suero humano (HSA, hALB).

[7] Figura 2: Evaluación de la Activación de Células T Independiente de la Diana mediante constructos de anticuerpo BiTE® HLE de Diana A. 2(a) constructo de anticuerpo de la invención en un ensayo de activación de 48 h con PBMC humanas (3x); diluciones seriales de BiTE® HLE (inicial 20 nM; 1:5, 7x+blanco); con o sin bloqueo de FcR [10 mg/ml hulgG (Kiovog, Baxter)]; mediciones FACS de la expresión de CD69 y CD25 [no mostradas] sobre células T CD4⁺, CD8⁺. 2(b) Constructo de anticuerpo hetero-Fc en ensayo de activación de 48 hs con PBMC humanas y PBMC agotadas en células CD14⁺/CD33⁺ (3x); diluciones seriales de BiTE® HLE (inicial 20 nM; 1:5, 7x+blanco); medición FACS de expresión de CD69 y CD25 [no mostrada] sobre células T CD4⁺, CD8⁺.

[8] Figura 3: Evaluación de la Activación de Células T Independiente de la Diana mediante constructos de anticuerpo BiTE® HLE de Diana B. 3(a) constructo de anticuerpo de la invención en un ensayo de activación de 48 h con PBMC humanas (3x); diluciones seriales de BiTE® HLE (inicial 20 nM; 1:5, 7x+blanco); con o sin bloqueo de FcR [10 mg/ml hulgG (Kiovog, Baxter)]; mediciones FACS de la expresión de CD69 y CD25 [no mostradas] sobre células T CD4⁺, CD8⁺. 3(b) Constructo de anticuerpo hetero-Fc en ensayo de activación de 48 hs con PBMC humanas y PBMC agotadas en células CD14⁺/CD33⁺ (3x); diluciones seriales de BiTE® HLE (inicial 20 nM; 1:5, 7x+blanco); medición FACS de expresión de CD69 y CD25 [no mostrada] sobre células T CD4⁺, CD8⁺. 3(c) Constructo de X-body de Diana B en un ensayo de activación de 48 hs con PBMC humanas y PBMC agotadas en células CD14⁺/CD33⁺ (3x); diluciones seriales de BiTE® HLE (inicial 20 nM; 1:5, 7x+blanco); medición FACS de expresión de CD69 y CD25 [no mostrada] sobre células T CD4⁺, CD8⁺. 3(d) – 3(f)

PBMC aisladas a partir de tres donantes humanos diferentes fueron cultivadas en concentraciones crecientes de constructos de anticuerpo de anticuerpo HLE biespecíficos específicos para antígenos Diana B durante 48 h. La expresión del marcador de activación CD69 sobre células T CD4+ y CD8+ se determinó mediante análisis de citometría de flujo usando un mab conjugado a PE-Cy7 específico para CD69.

[9] Figura 4: Unión a Complemento C1q de constructos de anticuerpo de fusión BiTE® Fc. Una placa Maxisorp fue recubierta con los constructos de anticuerpo Fc de fusión BiTE® (BiTE® Fc cadena simple (triángulo), BiTE® hetero Fc (cuadrados), BiTE® canónico (círculo) (en diluciones seriales), antes de incubación con conjunto de sueros humanos (*pool*) e incubación con anticuerpo policlonal murino anti-CC1q humano, visualizado mediante anti-Fc de ratón de cabra conjugado con AP (conjugado Fc-AP).

[10] Figura 5: Perfiles PK medios para dos constructos BiTE® HLE para PSMA diferentes después de administración de una única dosis en monos cinomolgos. Por razones de comparación, las concentraciones en suero fueron normalizadas para dosis a 15 µg/kg y se indicaron en nmol.

[11] Figura 6: Variantes de scFc biespecíficos D9F (SEQ ID NO: 481), T2G (SEQ ID NO: 482), D3L (SEQ ID NO: 483), T7I (SEQ ID NO: 484) y K6C (SEQ ID NO: 485). Un constructo de anticuerpo preferido de la presente invención se muestra en SEQ ID NO: 481.

[12] Figura 7: Determinación basada en resonancia de plasmones de superficie (SPR, su sigla en inglés) de la unión a FcRn humano. Cada uno de los constructos D9F, T2G, D3L, T7I y K6C fue evaluado en cuanto a su capacidad de unión contra FcRn humano en experimentos SPR (Biacore). La unión máxima durante la fase de inyección se midió para todos los constructos como las unidades de respuesta (RU) respectivas, equivalentes al incremento en masa molecular sobre el chip CM5 recubierto con FcRn debido a la unión del constructo. Todos los constructos se midieron en duplicado. Los valores promedio de las determinaciones por duplicado se muestran en la Figura 7A y 7B.

[13] Figura 8: Cada uno de los constructos D9F, T2G, D3L, T7I y K6C y un anticuerpo IgG1-kappa MT201 fue evaluado en cuanto a su capacidad de unión contra FcRn humano en experimentos SPR (Biacore). La unión máxima durante la fase de inyección se midió para todos los constructos como las unidades de respuesta (RU) respectivas, equivalentes al incremento en masa molecular sobre el chip CM5 recubierto con FcRn debido a la unión del constructo. Todos los constructos se midieron en duplicado. Los valores promedio de las determinaciones por duplicado se muestran incluyendo las barras de error de desviación estándar.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[14] Además de la vida media significativamente prolongada de los constructos de anticuerpo de la invención, los cuales son preferiblemente biespecíficos, la fusión de la modalidad Fc específica, es decir, en el tercer dominio de acuerdo con la presente invención, es responsable de un impacto significativo sorprendente en el primero y segundo dominio de unión del constructo de anticuerpo de la invención. Así, mientras otras modalidades extendedoras de la vida media de constructos de anticuerpo que se ligan a células T muestran características preferidas individuales, la elección de la presente modalidad Fc específica permite la provisión de moléculas biespecíficas las cuales típicamente muestran un amplio espectro de características preferidas de un formato molecular robusto y, así, permite el desarrollo de composiciones farmacéuticas prometedoras.

[15] Así, la presente invención provee un constructo de anticuerpo que comprende:

- un primer dominio de unión que se une a PSMA,
- un segundo dominio que se une a un epítoto extracelular de la cadena CD3ε humana y de *Macaca*; y
- un tercer dominio que comprende dos monómeros polipeptídicos, comprendiendo cada uno una bisagra, un dominio CH2 y un dominio CH3, en donde dichos dos monómeros polipeptídicos están fusionados entre sí mediante un enlazador peptídico.

[16] La expresión “constructo de anticuerpo” se refiere a una molécula en la cual la estructura y/o función está/n basada/s en la estructura y/o función de un anticuerpo, por ej., de una molécula de inmunoglobulina de longitud completa o entera. Un constructo de anticuerpo es por lo tanto capaz de unirse a su diana o antígeno específico y/o está/n derivados de los dominios de la cadena pesada variable (VH) y/o de la cadena liviana variable (VL) de un anticuerpo o fragmento del mismo. Además, el dominio de unión de un constructo de anticuerpo de acuerdo con la invención comprende los requerimientos estructurales mínimos de un anticuerpo que permite la unión a la diana. Este requerimiento mínimo puede por ej., estar definido por la presencia de al menos las tres CDRs de la cadena liviana (es decir, CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VL) y/o las tres CDRs de la cadena pesada (es decir, CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VH), preferiblemente por la presencia de todas las seis CDRs. Una estrategia alternativa para definir los requerimientos de estructura mínimos de un anticuerpo es la definición del epítoto del anticuerpo dentro de la estructura de la diana específica, respectivamente, el dominio de proteína de la proteína diana que compone la región del epítoto (clúster de epítopes) o mediante referencia a un anticuerpo específico que compite con el epítoto del anticuerpo definido. Los anticuerpos sobre los cuales están basados los constructos de acuerdo con la invención, incluyen por ejemplo, anticuerpos monoclonales, recombinantes, quiméricos, desimmunizados, humanizados y humanos.

[17] El dominio de unión de un constructo de anticuerpo de acuerdo con la invención puede por ej. comprender los grupos de CDRs antes mencionados. Preferiblemente, aquellas CDRs están comprendidas en la región de estructura de una región variable de cadena liviana (VL) de anticuerpo y una región variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo; no obstante, no necesita comprender ambas. Los fragmentos Fd, por ejemplo, tienen dos regiones VH y a menudo retienen algo de la función de unión a antígeno del dominio de unión a antígeno intacto. Ejemplos adicionales para el formato de fragmentos de anticuerpo, variantes de anticuerpo o dominios de unión incluyen (1) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que tiene los dominios VL, VH, CL y CH1; (2) un fragmento F(ab')₂, un fragmento bivalente que tiene dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra; (3) un fragmento Fd que tiene los dos dominios VH y CH1; (4) un fragmento Fv que tiene los dominios VL y VH de un brazo único de un anticuerpo, (5) un fragmento dAb (Ward *et al.*, (1989) Nature 341 :544-546), el cual tiene un dominio VH; (6) una región determinante de la complementariedad (CDR) aislada, y (7) un Fv de cadena única (scFv), siendo preferido este último (por ejemplo, derivado a partir de una biblioteca de scFV). Ejemplos para las formas de realización de los constructos de anticuerpo de acuerdo con la invención están por ej., descritos en WO 00/006605, WO 2005/040220, WO 2008/119567, WO 2010/037838, WO 2013/026837, WO 2013/026833, US 2014/0308285, US 2014/0302037, WO 2014/144722, WO 2014/151910 y WO 2015/048272.

[18] También dentro de la definición de “dominio de unión” o “dominio que se une a” están los fragmentos de anticuerpos de longitud completa, tales como VH, VHH, VL, (s)dAb, Fv, Fd, Fab, Fab', F(ab')₂ o “r IgG” (“medio anticuerpo”). Los constructos de anticuerpo de acuerdo con la invención también pueden comprender fragmentos modificados de anticuerpos, también denominados variantes de anticuerpo, tales como scFv, di-scFv o bi(s)-scFv, scFv-Fc, scFv-cierre (*zipper*), scFab, Fab₂, Fab₃, diacuerpos, diacuerpos de cadena única, diacuerpos en tándem (Tandab's), di-scFv en tándem, tri-scFv en tándem, multicuerpos (*multibodies*) tales como triacuerpos (*triabodies*) o tetracuerpos (*tetrabodies*) y anticuerpos de dominio único tales como nanocuerpos (*nanobodies*) o anticuerpos de dominio variable único que comprenden meramente un dominio variable, el cual puede ser VHH, VH o VL, que específicamente se unen a un antígeno o epítipo independientemente de otras regiones o dominios V.

[19] Como se utiliza en la presente, las expresiones “Fv de cadena única”, “anticuerpos de cadena única” o “scFv” se refieren a fragmentos de anticuerpo de cadena polipeptídica única que comprenden las regiones variables tanto de la cadena pesada como la cadena liviana, pero carecen de las regiones constantes. Generalmente, un anticuerpo de cadena única comprende además un enlazador polipeptídico entre los dominios VH y VL que le permite

formar la estructura deseada la cual permitiría la unión a antígeno. Los anticuerpos de cadena única están discutidos en detalle por Pluckthun en *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg y Moore eds. Springer-Verlag, Nueva York, págs. 269-315 (1994). Se conocen diversos métodos para generar anticuerpos de cadena única, incluyendo aquellos descritos en las patentes US 4.694.778 y US 5.260.203; la publicación de solicitud internacional de patente WO 88/01649; Bird (1988) *Science* 242:423-442; Huston *et al.* (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883; Ward *et al.* (1989) *Nature* 334:54454; Skerra *et al.* (1988) *Science* 242:1038-1041. En formas de realización específicas, los anticuerpos de cadena única también pueden ser biespecíficos, multiespecíficos, humanos, y/o humanizados y/o sintéticos.

[20] Además, la definición de la expresión “constructo de anticuerpo” incluye constructos monovalentes, bivalentes y polivalentes/multivalentes y, así, los constructos biespecíficos, que se unen específicamente a solamente dos estructuras antigénicas, así como los constructos poliespecíficos/multiespecíficos, los cuales se unen específicamente a más de dos estructuras antigénicas, por ej., tres, cuatro o más, a través de distintos dominios de unión. Además, la definición de la expresión “constructo de anticuerpo” incluye moléculas que consisten en solamente una cadena polipeptídica así como moléculas que consisten en más de una cadena polipeptídica, cadenas que pueden ser, idénticas (homodímeros, homotrímeros u homo oligómeros) o diferentes (heterodímeros, heterotrímeros o hétero oligómeros). Ejemplos para los anticuerpos identificados anteriormente y variantes o derivados de los mismos están descritos *inter alia* en Harlow y Lane, *Antibodies a laboratory manual*, CSHL Press (1988) y *Using Antibodies: a laboratory manual*, CSHL Press (1999), Kontermann y Dübel, *Antibody Engineering*, Springer, 2^{da} ed. 2010 y Little, *Recombinant Antibodies for Immunotherapy*, Cambridge University Press 2009.

[21] El término “biespecífico” como se utiliza en la presente se refiere a un constructo de anticuerpo que es “al menos biespecífico”, es decir, comprende al menos un primer dominio de unión y un segundo dominio de unión, en donde el primer dominio de unión se une a un antígeno o diana (aquí: PSMA), y el segundo dominio de unión se une a otro antígeno o diana (aquí: CD3). Concordantemente, los constructos de anticuerpo de acuerdo con la invención comprenden especificidades para al menos dos antígenos o dianas diferentes. Por ejemplo, el primer dominio de unión preferiblemente no se une a un epítipo extracelular de CD3ε de una o más de las especies como se describe en la presente. La expresión “antígeno de superficie de célula diana” se refiere a una estructura antigénica expresada por una célula y la cual está presente en la superficie de la célula de modo tal que es accesible para un constructo de anticuerpo como se describe en la presente. Puede ser una proteína, preferiblemente, la porción extracelular de una proteína, o una estructura de carbohidrato,

preferiblemente, una estructura de carbohidrato de una proteína, tal como una glicoproteína. Es preferiblemente, un antígeno tumoral. La expresión “constructo de anticuerpo biespecífico” de la invención también abarca constructos de anticuerpo multiespecíficos tales como constructos de anticuerpo triespecíficos, incluyendo estos últimos tres dominios de unión, o
5 constructos que tienen más de tres (por ej., cuatro, cinco...) especificidades.

[22] Dado que los constructos de anticuerpo de acuerdo con la invención son (al menos) biespecíficos, no existen en la naturaleza y son notablemente diferentes de los productos naturales. Un constructo de anticuerpo o inmunoglobulina “biespecífico” es por lo tanto un anticuerpo o inmunoglobulina híbrido artificial, que tiene al menos dos sitios de unión distintos
10 con diferentes especificidades. Los constructos de anticuerpo biespecíficos pueden ser producidos mediante una variedad de métodos incluyendo fusión de hibridomas o enlace de fragmentos Fab'. Ver, por ej, Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990).

[23] Los al menos dos dominios de unión y los dominios variables (VH/VL) del constructo de anticuerpo de la presente invención pueden o no comprender enlazadores peptídicos (péptidos espaciadores). La expresión “enlazador peptídico” comprende, de acuerdo con la presente invención, una secuencia de aminoácidos mediante la cual, están unidas entre sí las secuencias de aminoácidos de un dominio (variable y/o de unión) y otro dominio (variable y/o de unión) del constructo de anticuerpo de la invención. Los enlazadores peptídicos también pueden usarse para fusionar el tercer dominio a los otros dominios del constructo de anticuerpo de la invención. Una característica técnica esencial de dicho enlazador peptídico es que no comprende ninguna actividad de polimerización. Entre los enlazadores peptídicos adecuados están aquellos descritos en las patentes US 4.751.180 y US 4.935.233 o WO 88/09344. Los enlazadores peptídicos también pueden ser utilizados para unir otros dominios o módulos o regiones (tales como dominios que extienden la vida media) al
20 constructo de anticuerpo de la invención.
25

[24] Los constructos de anticuerpo de la presente invención son preferiblemente “constructos de anticuerpo generados *in vitro*”. Esta expresión se refiere a un constructo de anticuerpo de acuerdo con la definición anterior donde toda o parte de la región variable (por ej., al menos una CDR) es generada en una selección de células no inmunes, por ej., una presentación en fagos *in vitro*, chip de proteínas o cualquier otro método en el cual las secuencias candidatas puedan ser evaluadas en cuanto a su capacidad de unirse a un antígeno. Esta expresión así preferiblemente excluye secuencias generadas solamente mediante reordenamientos genómicos en una célula inmune en un animal. Un “anticuerpo recombinante” es un anticuerpo preparado mediante el uso de la tecnología de ADN
30 recombinante o ingeniería genética.
35

- [25]** La expresión “anticuerpo monoclonal” (mAb) o constructo de anticuerpo monoclonal como se utiliza en la presente se refiere a un anticuerpo obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos excepto por posibles mutaciones que ocurren naturalmente y/o modificaciones post-traduccionales (por ej., isomerizaciones, amidaciones) que pueden estar presentes en cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales son altamente específicos, estando dirigidos contra un único sitio antigénico o determinante sobre el antígeno, en contraste con las preparaciones de anticuerpos convencionales (policlonales) que típicamente incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (o epítopes). Además de su especificidad, los anticuerpos monoclonales son ventajosos en que son sintetizados por cultivo de hibridomas, por ende, no contaminados por otras inmunoglobulinas. El modificador “monoclonal” indica el carácter del anticuerpo como que fue obtenido a partir de una población sustancialmente homogénea de anticuerpos, y no debe interpretarse que requiere la producción del anticuerpo mediante ningún método particular.
- [26]** Para la preparación de anticuerpos monoclonales, puede utilizarse cualquier técnica que provea anticuerpos producidos mediante cultivos continuos de líneas celulares. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales a ser utilizados pueden ser preparados mediante el método de hibridoma descubierto por primera vez por Koehler *et al.*, Nature, 256: 495 (1975), o pueden prepararse mediante métodos de ADN recombinante (ver, por ej., la patente US 4.816.567). Ejemplos de técnicas adicionales para producir anticuerpos monoclonales humanos incluyen la técnica de trioma, la técnica de hibridoma de células B humanas (Kozbor, Immunology Today 4 (1983), 72) y la técnica de hibridoma EBV (Cole *et al.*, *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc. (1985), 77-96).
- [27]** Los hibridomas pueden ser a continuación relevados utilizando métodos estándar, tales como el ensayo de inmunosorción ligado a enzimas (ELISA) y análisis por resonancia de plasmones de superficie (BIAcore™), para identificar uno o más hibridomas que producen un anticuerpo que específicamente se une a un antígeno especificado. Cualquier forma del antígeno relevante puede ser utilizada como inmunógeno, por ej., antígeno recombinante, formas que ocurren naturalmente, cualquier variante o fragmento del mismo, así como un péptido antigénico del mismo. La resonancia de plasmones de superficie como se emplea en el sistema BIAcore puede ser utilizada para incrementar la eficiencia de los anticuerpos de fago que se unen a un epítipo de un antígeno de superficie de una célula diana (Schier, *Human Antibodies Hybridomas* 7 (1996), 97-105; Malmberg, J. Immunol. Methods 183 (1995), 7-13).

[28] Otro método a modo de ejemplo para preparar anticuerpos monoclonales incluye el relevamiento de bibliotecas de expresión de proteínas, por ej., bibliotecas de presentación en fago o de presentación en ribosoma. La presentación en fago está descripta, por ejemplo, en Ladner *et al.*, Patente US 5.223.409; Smith (1985) Science 228:1315-1317, Clackson *et al.*, Nature, 352: 624-628 (1991) y Marks *et al.*, J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991).

[29] Además del uso de bibliotecas de presentación, el antígeno relevante puede ser utilizado para inmunizar un animal no humano, por ej., un roedor (tal como un ratón, hámster, conejo o rata). En una forma de realización, el animal no humano incluye al menos una parte de un gen de inmunoglobulina humana. Por ejemplo, es posible preparar mediante ingeniería cepas de ratones deficientes en la producción de anticuerpo de ratón con grandes fragmentos de los loci de Ig (inmunoglobulina) humana. Utilizando la tecnología de hibridoma, se pueden producir y seleccionar anticuerpos monoclonales específicos de antígeno, derivados a partir de los genes con la especificidad deseada. Ver, por ej., XENOMOUSE™, Green *et al.* (1994) Nature Genetics 7:13-21, US 2003-0070185, WO 96/34096 y WO 96/33735.

[30] Un anticuerpo monoclonal también puede ser obtenido a partir de un animal no humano y luego modificado, por ej., humanizado, desinmunizado, convertido en quimérico etc., utilizando técnicas de ADN recombinante conocidas en el arte. Ejemplos de constructos de anticuerpos modificados incluyen variantes humanizadas de anticuerpos no humanos, anticuerpos "madurados por afinidad" (ver, por ej., Hawkins *et al.* J. Mol. Biol. 254, 889-896 (1992) y Lowman *et al.*, Biochemistry 30, 10832- 10837 (1991)) y mutantes de anticuerpo con función/es efectora/s alterada/s (ver, por ej., la patente US 5.648.260, Kontermann y Dübel (2010), *loc. cit.* y Little (2009), *loc. cit.*).

[31] En inmunología, la maduración por afinidad es el proceso mediante el cual las células B producen anticuerpos con afinidad incrementada por el antígeno durante el transcurso de una respuesta inmune. Con exposiciones repetidas al mismo antígeno, un hospedadora producirá anticuerpos de afinidades sucesivamente superiores. Al igual que el prototipo natural, la maduración por afinidad *in vitro* está basada en los principios de mutación y selección. La maduración por afinidad *in vitro* ha sido utilizada exitosamente para optimizar anticuerpos, constructos de anticuerpo, y fragmentos de anticuerpo. Las mutaciones al azar dentro de las CDRs son introducidas utilizando radiación, mutágenos químicos o PCR proclive a error. Además, la diversidad genética puede ser incrementada mediante intercambio de cadenas (*chain shuffling*). Dos o tres rondas de mutación y selección utilizando métodos como presentación en fago normalmente da por resultado fragmentos de anticuerpo con afinidades en el rango nanomolar bajo.

[32] Un tipo preferido de una variación sustitucional de aminoácido de los constructos de anticuerpo involucra la sustitución de uno o más residuos de la región hipervariable de un anticuerpo parental (por ej. un anticuerpo humanizado o humano). Generalmente, la/s variante/s resultante/s seleccionada/s para ulterior desarrollo tendrán propiedades biológicas mejoradas en relación con el anticuerpo parental a partir del cual son generadas. Un modo conveniente para generar tales variantes sustitucionales involucra la maduración por afinidad utilizando presentación en fagos. Brevemente, varios sitios de la región hipervariable (por ej. 6-7 sitios) son mutados para generar todas las posibles sustituciones de aminoácidos en cada sitio. Las variantes del anticuerpo así generadas son presentadas de una manera monovalente desde partículas de fagos filamentosos como fusiones al producto del gen III de M13 empaquetado dentro de cada partícula. Las variantes presentadas en fagos son luego relevadas en cuanto a su actividad biológica (por ej. afinidad de unión) como se describe en la presente. Con el objeto de identificar sitios de región hipervariable candidatos para modificación, puede llevarse a cabo una mutagénesis de mapeo de alanina para identificar residuos de región hipervariable que contribuyen significativamente a la unión a antígeno. Alternativamente o adicionalmente, puede ser beneficioso analizar una estructura cristalina del complejo antígeno-anticuerpo para identificar puntos de contacto entre el dominio de unión y por ej. PSMA humano. Tales residuos de contacto y residuos vecinos son candidatos para sustitución de acuerdo con las técnicas elaboradas en la presente. Una vez que son generadas dichas variantes, el panel de variantes es sometido a relevamiento como se describe en la presente y pueden seleccionarse anticuerpos con propiedades superiores en uno o más ensayos relevantes para desarrollo ulterior.

[33] Los anticuerpos monoclonales y constructos de anticuerpo de la presente invención incluyen específicamente anticuerpos “quiméricos” (inmunoglobulinas) en los cuales una porción de la cadena pesada y/o liviana es idéntica u homóloga a las secuencias correspondientes en anticuerpos derivados de una especie particular o que pertenecen a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el resto de la/s cadena/s es idéntico u homólogo a las correspondientes secuencias en anticuerpos derivados de otras especies o pertenecientes a otra clase o subclase de anticuerpos, así como fragmentos de dichos anticuerpos, mientras exhiban la actividad biológica deseada (patente US 4.816.567; Morrison *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855 (1984)). Los anticuerpos quiméricos de interés en la presente incluyen anticuerpos “primatizados” que comprenden secuencias de unión a antígeno del dominio variable derivadas de primate no humano (por ej. Mono del Viejo Mundo, simio, etc.) y secuencias de la región constante humana. Se han descripto una variedad de enfoques para preparar anticuerpos quiméricos. Ver por ej. Morrison *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sc. U.S.A. 81:6851, 1985; Takeda *et al.*, Nature 314:452, 1985, Cabilly *et al.*,

patente US 4.816.567; Boss *et al.*, patente US 4.816.397; Tanaguchi *et al.*, EP 0171496; EP 0173494 y GB 2177096.

[34] Un anticuerpo, constructo de anticuerpo, fragmento de anticuerpo o variante de anticuerpo puede también ser modificado mediante delección específica de epítopes de células T humanas (un método denominado “desinmunización”) por los métodos descritos por ejemplo en la WO 98/52976 o WO 00/34317. Brevemente, los dominios variables de la cadena pesada y la cadena liviana de un anticuerpo pueden ser analizados en cuanto a péptidos que se unen a MHC clase II; estos péptidos representan potenciales epítopes de células T (como se define en WO 98/52976 y WO 00/34317). Para la detección de potenciales epítopes de células T, puede aplicarse un enfoque de modelado por computadora denominado “enhebrado de péptidos” (*peptide threading*), y además pueden buscarse motivos presentes en las secuencias VH y VL en una base de datos de péptidos que se unen a MHC clase II humano, como se describe en las WO 98/52976 y WO 00/34317. Estos motivos se unen a cualquiera de los 18 principales alotipos DR de MHC clase II, y así constituyen potenciales epítopes de células T. Los potenciales epítopes de células T detectados pueden ser eliminados sustituyendo pequeños números de residuos aminoácidos en los dominios variables, o preferiblemente, mediante sustituciones de aminoácidos individuales. Típicamente, se realizan sustituciones conservativas. A menudo, pero no exclusivamente, puede utilizarse un aminoácido común para una posición en las secuencias de anticuerpos de línea germinal humana. Secuencias de línea germinal humana están descriptas en, por ej., Tomlinson, *et al.* (1992) J. Mol. Biol. 227:776-798; Cook, G.P. *et al.* (1995) Immunol. Today Vol. 16 (5): 237-242; y Tomlinson *et al.* (1995) EMBO J. 14: 14:4628-4638. El directorio V BASE provee un directorio comprensivo de secuencias de regiones variables de inmunoglobulinas humanas (compiladas por LA. *et al.* MRC Centre for Protein Engineering, Cambridge, Reino Unido). Estas secuencias pueden ser utilizadas como una fuente de secuencia humana, por ej. para regiones de estructura y CDRs. También pueden utilizarse regiones de estructura humanas consenso, por ejemplo como se describe en la patente US 6.300.064.

[35] Los anticuerpos, constructos de anticuerpo y variantes o fragmentos de los mismos “humanizados” (tales como Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ u otras subsecuencias de anticuerpos que se unen a antígenos) son anticuerpos o inmunoglobulinas de secuencias mayormente humanas, que contienen una/s mínima/s secuencia/s derivada/s de inmunoglobulina no humana. Mayormente, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas humanas (anticuerpo receptor) en las cuales los residuos de una región hipervariable (también CDR) del receptor están reemplazados por residuos de una región hipervariable de una especie no humana (por ej. roedor) (anticuerpo dador) tal como ratón, rata, hámster o conejo que tienen

la especificidad, afinidad y capacidad deseadas. En algunos casos, residuos de la región de estructura (FR) de Fv de la inmunoglobulina humana están reemplazados por correspondientes residuos no humanos. Además, “anticuerpos humanizados” como se utiliza en la presente puede también comprender residuos que no son hallados ni en el anticuerpo receptor ni en el anticuerpo dador. Estas modificaciones se realizan para refinar y optimizar adicionalmente el desempeño del anticuerpo. El anticuerpo humanizado también puede comprender al menos una porción de una región constante (Fc) de inmunoglobulina, típicamente aquella de una inmunoglobulina humana. Para detalles adicionales, ver Jones *et al.*, Nature, 321: 522-525 (1986); Reichmann *et al.*, Nature, 332: 323-329 (1988); y Presta, Curr. Op. Struct. Biol., 2: 593-596 (1992).

[36] Los anticuerpos humanizados o fragmentos de los mismos pueden ser generados reemplazando secuencias del dominio variable Fv que no están directamente involucradas en la unión a antígeno con secuencias equivalentes de dominios variables Fv humanos. Métodos a modo de ejemplo para generar anticuerpos humanizados o fragmentos de los mismos se proveen en Morrison (1985) Science 229:1202-1207; por Oi *et al.* (1986) BioTechniques 4:214; y por US 5.585.089; US 5.693.761; US 5.693.762; US 5.859.205; y US 6.407.213. Esos métodos incluyen aislamiento, manipulación y expresión de las secuencias de ácido nucleico que codifican para todos o parte de los dominios variables Fv de inmunoglobulinas de al menos una de una cadena pesada o liviana. Dichos ácidos nucleicos pueden ser obtenidos a partir de un hibridoma que produce un anticuerpo contra una diana predeterminada, como se describe más arriba, así como de otras fuentes. El ADN recombinante que codifica para la molécula de anticuerpo humanizado puede luego ser clonado dentro de un vector de expresión apropiado.

[37] También pueden producirse anticuerpos humanizados utilizando animales transgénicos tales como ratones que expresan genes de las cadenas pesada y liviana humanas, pero son incapaces de expresar los genes endógenos de las cadenas pesada y liviana de ratón. Winter describe un método a modo de ejemplo de injerto de CDR que puede ser utilizado para preparar los anticuerpos humanizados descritos en la presente (patente US 5.225.539). Todas las CDRs de un anticuerpo humano particular pueden ser reemplazadas con al menos una porción de una CDR no humana, o solamente algunas de las CDRs pueden ser reemplazadas con CDRs no humanas. Solo es necesario reemplazar el número de CDRs requerido para unión del anticuerpo humanizado a un antígeno predeterminado.

[38] Un anticuerpo humanizado puede ser optimizado mediante la introducción de sustituciones conservativas, sustituciones de secuencia consenso, sustituciones de línea

germinal y/o retro-mutaciones. Tales moléculas de inmunoglobulina alteradas pueden ser preparadas mediante cualquiera de las diversas técnicas conocidas en el arte, (por ej. Teng *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU., 80: 7308-7312, 1983; Kozbor *et al.*, Immunology Today, 4: 7279, 1983; Olsson *et al.*, Meth. Enzymol., 92: 3-16, 1982, y EP 239 400).

5 **[39]** Las expresiones “anticuerpo humano”, “constructo de anticuerpo humano” y “dominio de unión humano” incluyen anticuerpos, constructos de anticuerpo y dominios de unión que tienen regiones de anticuerpo tales como regiones o dominios variables y constantes que corresponden sustancialmente a secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana conocidas en el arte, incluyendo por ejemplo, aquellas descritas por Kabat *et al.* (1991) (*loc.*
 10 *cit.*). Los anticuerpos, constructos de anticuerpo o dominios de unión humanos de la invención pueden incluir residuos aminoácidos no codificados por las secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana (por ej. mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o sitio-específica *in vitro* o mediante mutación somática *in vivo*), por ejemplo en las CDRs, y en particular en CDR3. Los anticuerpos, constructos de anticuerpo o dominios de unión humanos
 15 pueden tener al menos una, dos, tres, cuatro, cinco, o más posiciones reemplazadas con un residuo aminoácido que no está codificado por la secuencia de inmunoglobulina de la línea germinal humana. La definición de anticuerpos, constructos de anticuerpos y dominios de unión humanos como se utiliza en la presente también contempla anticuerpos completamente humanos, que incluyen solo secuencias de anticuerpos humanos no artificialmente y/o
 20 genéticamente alteradas como aquellas que pueden ser derivadas utilizando tecnologías o sistemas, tales como el XenoMouse. Preferiblemente, un “anticuerpo completamente humano” no incluye residuos aminoácido no codificados por las secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana.

[40] En algunas formas de realización, los constructos de anticuerpo de la invención son
 25 constructos de anticuerpo “aislados” o “sustancialmente puros”. “Aislado” o “sustancialmente puro” cuando se utilizan para describir los constructos de anticuerpo descritos en la presente, significan un constructo de anticuerpo que ha sido identificado, separado y/o recuperado de un componente de su entorno de producción. Preferiblemente, el constructo de anticuerpo está libre o sustancialmente libre de asociación con todos los otros componentes de su
 30 entorno de producción. Los componentes contaminantes de su entorno de producción, tales como aquellos que resultan de las células transfectadas recombinantes, son materiales que típicamente interferirían con los usos diagnósticos o terapéuticos del polipéptido, y pueden incluir enzimas, hormonas, y otros solutos proteináceos o no proteináceos. Los constructos de anticuerpo pueden por ej. constituir al menos aproximadamente 5%, o al menos
 35 aproximadamente 50% en peso de la proteína total en una muestra dada. Se entiende que la proteína aislada puede constituir desde 5% a 99,9% en peso del contenido total de proteínas,

dependiendo de las circunstancias. El polipéptido puede ser preparado en un nivel de concentración significativamente más elevado mediante el uso de un promotor inducible o promotor de elevada expresión, de modo que sea preparado a niveles de concentración aumentados. La definición incluye la producción de un constructo de anticuerpo en una amplia
5 variedad de organismos y/o células hospedadoras que son conocidos en el arte. En formas de realización preferidas, el constructo de anticuerpo será purificado (1) hasta un grado suficiente para obtener al menos 15 residuos de la secuencia de aminoácidos N-terminal o interna mediante el uso de un secuenciador de copa giratoria, o (2) hasta la homogeneidad mediante SDS-PAGE en condiciones no reductoras o reductoras utilizando azul de
10 Coomassie o, preferiblemente, tinción con plata. Usualmente, sin embargo, un constructo de anticuerpo aislado será preparado mediante al menos una etapa de purificación.

[41] La expresión “dominio de unión” caracteriza, en conexión con la presente invención, un dominio que se une (específicamente) a/interactúa con/reconoce un epítipo diana dado o un sitio diana dado sobre las moléculas diana (antígenos), aquí: PSMA y CD3,
15 respectivamente. La estructura y función del primer dominio de unión (reconocimiento de PSMA) y preferiblemente también la estructura y/o función del segundo dominio de unión (reconocimiento de CD3), está/n basado/s en la estructura y/o función de un anticuerpo, por ej. de una molécula de inmunoglobulina de longitud completa o total, y/o está/n derivado/s de los dominios de la cadena pesada variable (VH) y/o de la cadena liviana variable (VL) un
20 anticuerpo o fragmento del mismo. Preferiblemente, el primer dominio de unión está caracterizado por la presencia de tres CDRs de la cadena liviana (es decir CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VL) y/o tres CDRs de la cadena pesada (es decir CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VH). El segundo dominio de unión preferiblemente también comprende los requerimientos mínimos estructurales de un anticuerpo que permiten la unión a la diana. Más
25 preferiblemente, el segundo dominio de unión comprende al menos tres CDRs de la cadena liviana (es decir CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VL) y/o tres CDRs de la cadena pesada (es decir CDR1, CDR2 y CDR3 de la región VH). Se contempla que el primer y/o segundo dominio de unión sean producidos u obtenibles mediante presentación en fagos o métodos de relevamiento de bibliotecas en lugar de mediante injerto de secuencias de CDR desde un
30 anticuerpo (monoclonal) pre-existente dentro de un esqueleto (*scaffold*).

[42] De acuerdo con la presente invención, los dominios de unión están en la forma de uno o más polipéptidos. Tales polipéptidos pueden incluir partes proteináceas y partes no proteináceas (por ej. compuestos químicos de unión o agentes de entrecruzamiento químico tales como glutaraldehído). Las proteínas (incluyendo fragmentos de las mismas,
35 preferiblemente fragmentos biológicamente activos, y péptidos, usualmente que tienen menos

de 30 aminoácidos) comprenden dos o más aminoácidos acoplados entre sí mediante enlace peptídico covalente (dando por resultado una cadena de aminoácidos).

[43] El término “polipéptido” como se utiliza en la presente describe un grupo de moléculas, que usualmente consisten en más de 30 aminoácidos. Los polipéptidos pueden además
 5 formar multímeros tales como dímeros, trímeros y oligómeros superiores, es decir que consisten en más de una molécula polipeptídica. Las moléculas de polipéptidos que forman tales dímeros, trímeros, etc. pueden ser idénticas o no idénticas. Las correspondientes estructuras de orden superior de multímeros de este tipo son, por consiguiente, denominadas homo- o heterodímeros, homo- o heterotrímeros, etc. Un ejemplo para un heteromultímero es
 10 una molécula de anticuerpo, la cual, en su forma natural, consiste de dos cadenas polipeptídicas livianas idénticas y dos cadenas polipeptídicas pesadas idénticas. Los términos “péptido”, “polipéptido” y “proteína” se refieren también a péptidos/polipéptidos/proteínas naturalmente modificados en donde la modificación se efectúa por ejemplo por modificaciones pos-traduccionales tales como glicosilación, acetilación, fosforilación y similares. Cuando en
 15 la presente se hace referencia a un “péptido”, “polipéptido” o “proteína” también pueden estar modificados químicamente, tal como pegilados. Tales modificaciones son bien conocidas en la técnica y descriptas en la presente más abajo.

[44] Preferiblemente, el dominio de unión que se une a PSMA y/o el dominio de unión que se une a CD3 ϵ es/son dominios de unión humanos. Los anticuerpos y constructos de
 20 anticuerpo que comprenden al menos un dominio de unión humano evitan algunos de los problemas asociados con anticuerpos o constructos de anticuerpo que poseen regiones variables y/o constantes no humanas, tales como de roedores (por ej. murino, rata, hámster o conejo). La presencia de tales proteínas derivadas de roedores puede conducir a la eliminación rápida de los anticuerpos o constructos de anticuerpo o pueden conducir a la
 25 generación de una respuesta inmune contra el anticuerpo o constructo de anticuerpo por parte de un paciente. Con el objeto de evitar el uso de anticuerpos o constructos de anticuerpo derivados de roedores, pueden generarse anticuerpos/constructos de anticuerpo humanos o completamente humanos mediante la introducción de la función de anticuerpo humano en un roedor de modo que el roedor produce anticuerpos completamente humanos.

[45] La capacidad de clonar y reconstruir loci humanos de tamaño megabases en YACs y de introducirlos dentro de la línea germinal de ratón provee un enfoque poderoso para elucidar los componentes funcionales de loci muy grandes o mapeados de manera aproximada así como de generar modelos útiles de enfermedades humanas. Adicionalmente, el uso de tal tecnología para sustitución de loci de ratón con sus equivalentes humanos podría proveer
 35 conocimientos únicos sobre la expresión y regulación de productos de genes humanos

durante el desarrollo, su comunicación con otros sistemas y su involucramiento en la inducción y progresión de enfermedades.

[46] Una importante aplicación práctica de dicha estrategia es la “humanización” del sistema inmune humoral de ratón. La introducción de loci de inmunoglobulina (Ig) humana dentro de ratones en los cuales los genes endógenos de Ig han sido inactivados ofrece la oportunidad de estudiar los mecanismos que subyacen a la expresión programada y ensamble de anticuerpos así como su rol en el desarrollo de células B. Además, dicha estrategia podría proveer una fuente ideal para la producción de anticuerpos monoclonales (mAbs) completamente humanos –un hito importante hacia el cumplimiento de la promesa de terapia de anticuerpos en enfermedades humanas. Se espera que los anticuerpos o constructos de anticuerpo completamente humanos minimicen las respuestas inmunogénicas y alérgicas intrínsecas a los mAbs de ratón o derivatizados de ratón y así aumentar la eficacia y seguridad de los anticuerpos/constructos de anticuerpo administrados. Puede esperarse que el uso de anticuerpos o constructos de anticuerpo completamente humanos provea una ventaja sustancial en el tratamiento de enfermedades humanas crónicas y recurrentes, tales como inflamación, autoinmunidad y cáncer, las cuales requieren repetida administración de compuestos.

[47] Una aproximación hacia ese objetivo fue la ingeniería de cepas de ratones deficientes en la producción de anticuerpos de ratón con grandes fragmentos de los loci de Ig humana con la esperanza de que dichos ratones producirían un gran repertorio de anticuerpos humanos en ausencia de anticuerpos de ratón. Los grandes fragmentos de Ig humana preservarían la gran diversidad de genes variables así como la regulación apropiada de la producción y expresión de anticuerpos. Explotando la maquinaria del ratón para la diversificación y selección de anticuerpos y la falta de tolerancia inmunológica a proteínas humanas, el repertorio de anticuerpos humanos reproducidos en estas cepas de ratón debería brindar anticuerpos de alta afinidad contra cualquier antígeno de interés, incluyendo antígenos humanos. Utilizando la tecnología de hibridoma, podrían producirse y seleccionarse fácilmente mAbs humanos específicos para antígeno con la especificidad deseada. Esta estrategia general fue demostrada en conexión con la generación de las primeras cepas del ratón XenoMouse (ver Green *et al.* Nature Genetics 7:13-21 (1994)). Las cepas XenoMouse fueron modificadas por ingeniería con cromosomas artificiales de levaduras (YACs, según sus siglas en inglés) que contenían fragmentos de configuración de línea germinal de tamaño 245 kb y 190 kb del locus de cadena pesada humana y del locus de cadena liviana kappa, respectivamente, los cuales contenían secuencias núcleo de región variable y constante. Los YACs que contenían Ig humana probaron ser compatibles con el sistema de ratón tanto para el reordenamiento como para la expresión de anticuerpos y fueron capaces de sustituir los

genes de Ig de ratón inactivados. Esto fue demostrado por su capacidad de inducir el desarrollo de células B, para producir un repertorio humano de tipo adulto de anticuerpos completamente humanos, y generar mAbs humanos específicos para antígeno. Estos resultados también sugirieron que la introducción de grandes porciones de loci de Ig humana
 5 conteniendo mayores números de genes V, elementos regulatorios adicionales y regiones constantes de Ig humana, pueden recapitular sustancialmente el repertorio completo que es característico de la respuesta humoral humana a la infección e inmunización. El trabajo de Green *et al.* fue recientemente extendido a la introducción de más de aproximadamente 80%
 10 del repertorio de anticuerpos humanos mediante la introducción de fragmentos YAC de configuración de línea germinal, del tamaño de megabases, de loci de la cadena pesada y loci de la cadena liviana kappa humanos, respectivamente. Ver Mendez *et al.* Nature Genetics 15:146-156 (1997) y la solicitud de patente US Ser. No. 08/759.620.

[48] La producción del ratón XenoMouse está discutida y delineada adicionalmente en las solicitudes de patente US Ser. No. 07/466,008, Ser. No. 07/610,515, Ser. No. 07/919,297,
 15 Ser. No. 07/922,649, Ser. No. 08/031,801, Ser. No. 08/112,848, Ser. No. 08/234,145, Ser. No. 08/376,279, Ser. No. 08/430,938, Ser. No. 08/464,584, Ser. No. 08/464,582, Ser. No. 08/463,191, Ser. No. 08/462,837, Ser. No. 08/486,853, Ser. No. 08/486,857, Ser. No. 08/486,859, Ser. No. 08/462,513, Ser. No. 08/724,752, y Ser. No. 08/759,620; y patentes US 6.162.963; US 6.150.584; US 6.114.598; US 6.075.181, y US 5.939.598 y
 20 patentes JP 3 068 180 B2, JP 3 068 506 B2, y JP 3 068 507 B2. Ver también Mendez *et al.* Nature Genetics 15:146-156 (1997) y Green y Jakobovits J. Exp. Med. 188:483-495 (1998), EP 0 463 151 B1, WO 94/02602, WO 96/34096, WO 98/24893, WO 00/76310, y WO 03/47336.

[49] En una aproximación alternativa, otros, incluyendo GenPharm International, Inc., han
 25 utilizado un enfoque "minilocus". En el enfoque minilocus, un locus de Ig exógeno es imitado a través de la inclusión de piezas (genes individuales) del locus de Ig. Así, se forman uno o más genes VH, uno o más genes DH, uno o más genes JH, una región constante mu, y una segunda región constante (preferiblemente una región constante gamma) dentro de un constructo para la inserción dentro de un animal. Este enfoque está descrito en la patente
 30 US 5.545.807 de Surani *et al.* y en las patentes US 5.545.806; US 5.625.825; US 5.625.126; US 5.633.425; US 5.661.016; US 5.770.429; US 5.789.650; US 5.814.318; US 5.877.397; US 5.874.299; y US 6.255.458 todas de Lonberg y Kay, las patentes US 5.591.669 y US 6.023.010 de Krimpenfort y Berns, las patentes US 5.612.205; US 5.721.367 y US 5.789.215 de Berns *et al.*, y la patente US 5.643.763 de Choi y Dunn, y las solicitudes de patente de
 35 GenPharm International Ser. No. 07/574.748, Ser. No. 07/575.962, Ser. No. 07/810.279, Ser. No. 07/853.408, Ser. No. 07/904.068, Ser. No. 07/990.860, Ser. No. 08/053.131, Ser.

No. 08/096.762, Ser. No. 08/155.301, Ser. No. 08/161.739, Ser. No. 08/165.699, Ser. No. 08/209.741. Ver también EP 0 546 073 B1, WO 92/03918, WO 92/22645, WO 92/22647, WO 92/22670, WO 93/12227, WO 94/00569, WO 94/25585, WO 96/14436, WO 97/13852, y WO 98/24884 y la patente US 5.981.175. Ver además Taylor *et al.* (1992), Chen *et al.* (1993),
 5 Tuailon *et al.* (1993), Choi *et al.* (1993), Lonberg *et al.* (1994), Taylor *et al.* (1994), y Tuailon *et al.* (1995), Fishwild *et al.* (1996).

[50] Kirin también ha demostrado la generación de anticuerpos humanos a partir de ratones en los cuales, a través de fusión microcelular, se han introducido grandes piezas de cromosomas, o cromosomas enteros. Ver las solicitudes de patente EP 773288 y EP 843961.

10 Xenerex Biosciences está desarrollando una tecnología para la potencial generación de anticuerpos humanos. En esta tecnología, los ratones SCID son reconstituidos con células linfáticas humanas, por ej., células B y/o T. Los ratones son luego inmunizados con un antígeno y pueden generar una respuesta inmune contra el antígeno. Ver las patentes US 5.476.996; US 5.698.767; y US 5.958.765.

15 **[51]** Las respuestas de anticuerpo humano anti-ratón (HAMA, por sus siglas en inglés) han conducido a la industria a preparar anticuerpos quiméricos o humanizados de otra forma. No obstante, se espera observar ciertas respuestas de anticuerpo humano anti-quimérico (HACA, por sus siglas en inglés), particularmente en las utilidades del anticuerpo crónicas o en multidosis. Así, sería deseable proveer constructos de anticuerpo que comprendan un
 20 dominio de unión humano contra PSMA y un dominio de unión humano contra CD3 ϵ a fin de anular las preocupaciones y/o los efectos de una respuesta HAMA o HACA.

[52] Las expresiones “se une (específicamente) a”, “reconoce (específicamente)”, “está (específicamente) dirigido a”, y “reacciona (específicamente) con” significan, en concordancia con esta invención, que un dominio de unión interactúa o interactúa específicamente con un
 25 dado epítipo o con un dado sitio diana sobre las moléculas diana (antígenos), aquí: PSMA y CD3 ϵ , respectivamente.

[53] El término “epítipo” se refiere a un sitio sobre un antígeno al cual se une específicamente un dominio de unión, tal como un anticuerpo o inmunoglobulina, o un derivado, fragmento o variante de un anticuerpo o de una inmunoglobulina. Un “epítipo” es
 30 antigénico y por lo tanto el término epítipo es a veces también referido en la presente como “estructura antigénica” o “determinante antigénico”. Así, el dominio de unión es un “sitio de interacción con antígeno”. Dicha unión/interacción es también entendida como definición de “reconocimiento específico”.

[54] Los "epítopes" pueden formarse tanto mediante aminoácidos contiguos como mediante aminoácidos no contiguos yuxtapuestos mediante plegamiento terciario de una proteína. Un "epítipo lineal" es un epítipo en donde una secuencia primaria de aminoácidos comprende el epítipo reconocido. Un epítipo lineal típicamente incluye al menos 3 o al menos 4, y más frecuentemente, al menos 5 o al menos 6 o al menos 7, por ejemplo, aproximadamente 8 a aproximadamente 10 aminoácidos en una única secuencia.

[55] Un "epítipo conformacional", en contraste con un epítipo lineal, es un epítipo en donde la secuencia primaria de los aminoácidos que comprenden el epítipo no es el único componente definitorio del epítipo reconocido (por ej., un epítipo en donde la secuencia primaria de los aminoácidos no es necesariamente reconocida por el dominio de unión). Típicamente, un epítipo conformacional comprende un número incrementado de aminoácidos en relación al epítipo lineal. Con respecto al reconocimiento de epítopes conformacionales, el dominio de unión reconoce una estructura tridimensional del antígeno, preferiblemente un péptido o proteína o fragmento del mismo (en el contexto de la presente invención, la estructura antigénica para uno de los dominios de unión está comprendida dentro de la proteína del antígeno de superficie de célula diana). Por ejemplo, cuando una molécula de proteína se pliega para formar una estructura tridimensional, ciertos aminoácidos y/o el esqueleto del polipéptido que forma el epítipo conformacional se yuxtaponen, permitiendo que el anticuerpo reconozca el epítipo. Los métodos para determinar la conformación de epítopes incluyen, pero no se limitan a, cristalografía por rayos X, espectroscopía de resonancia magnética nuclear bidimensional (2D-NMR, por sus siglas en inglés) y marcación de spin dirigida al sitio y espectroscopía de resonancia paramagnética de electrones (EPR, por sus siglas en inglés).

[56] Un método para el mapeo de epítopes se describe a continuación: cuando una región (un tramo de aminoácidos contiguos) en la proteína PSMA humana es intercambiado/reemplazado con su región correspondiente de un PSMA no humano y no primate (por ej., PSMA de ratón, pero también pueden concebirse otros como de pollo, rata, hámster, conejo, etc.), se espera que ocurra una disminución en la unión del dominio de unión, a menos que el dominio de unión tenga reactividad cruzada con el PSMA no humano, no primate, utilizado. Dicha disminución es preferiblemente al menos 10%, 20%, 30%, 40%, o 50%; más preferiblemente al menos 60%, 70%, u 80%, y lo más preferible 90%, 95% o incluso 100% en comparación con la unión de la respectiva región en la proteína PSMA humano, de manera que la unión a la respectiva región en la proteína PSMA humana se establece en 100%. Está contemplado que las quimeras PSMA humano/PSMA no humano anteriormente mencionadas estén expresadas en células CHO. También está contemplado que las quimeras

PSMA humano/PSMA no humano, estén fusionadas con un dominio transmembrana y/o con un dominio citoplasmático de una proteína unida a membrana diferente tal como EpCAM.

[57] En un método alternativo o adicional para el mapeo de epítopes, se pueden generar varias versiones truncadas del dominio extracelular de PSMA humano a fin de determinar una región específica que es reconocida por un dominio de unión. En estas versiones truncadas, los diferentes dominios / sub-dominios o regiones de PSMA extracelulares, son delecionadas paso a paso, comenzando desde el extremo N-terminal. Está contemplado que las versiones truncadas de PSMA puedan estar expresadas en células CHO. También está contemplado que las versiones truncadas de PSMA puedan estar fusionadas con un dominio transmembrana y/o un dominio citoplasmático de una proteína unida a membrana diferente tal como EpCAM. También está contemplado que las versiones truncadas de PSMA puedan incluir un dominio de péptido señal en su extremo N-terminal, por ejemplo un péptido señal derivado del péptido señal de la cadena pesada de IgG de ratón. Se contempla adicionalmente que las versiones truncadas de PSMA puedan comprender un dominio v5 en su extremo N-terminal (siguiendo al péptido señal) que permita verificar su correcta expresión en la superficie celular. Se espera que ocurra una disminución o una pérdida de unión con aquellas versiones truncadas de PSMA que ya no abarcan una región de PSMA que es reconocida por el dominio de unión. La disminución de unión es preferiblemente al menos 10%, 20%, 30%, 40%, 50%; más preferiblemente al menos 60%, 70%, 80%, y más preferiblemente 90%, 95% o incluso 100%, en donde la unión a la proteína PSMA humana entera (o su región o dominio extracelular) se establece en 100%.

[58] Un método adicional para determinar la contribución de un residuo específico de un PSMA al reconocimiento por un constructo de anticuerpo o dominio de unión es el mapeo de alaninas (ver por ej., Morrison KL & Weiss GA. Cur Opin Chem Biol. 2001 Jun; 5(3):302-7), donde cada residuo a ser analizado es reemplazado por alanina, por ej., mediante mutagénesis dirigida al sitio. La alanina es utilizada debido a su grupo funcional metilo de poco volumen, inerte químicamente, que no obstante, imita las referencias a la estructura secundaria que muchos de los otros aminoácidos poseen. A veces, pueden ser utilizados aminoácidos voluminosos tales como valina o leucina en casos donde se desea la conservación del tamaño de los residuos mutados. El mapeo de alanina es una tecnología madura que ha sido utilizada durante un largo período de tiempo.

[59] La interacción entre el dominio de unión y el epítipo o la región que comprende el epítipo implica que un dominio de unión exhibe afinidad apreciable por el epítipo/la región que comprende el epítipo, sobre una proteína o antígeno en particular (aquí: PSMA y CD3, respectivamente) y, generalmente, no exhibe reactividad significativa con proteínas o

antígenos distintos del PSMA o CD3. “Afinidad apreciable” incluye la unión con una afinidad de aproximadamente 10^{-6} M (KD) o más fuerte. Preferiblemente, la unión es considerada específica cuando la afinidad de unión es aproximadamente 10^{-12} a 10^{-8} M, 10^{-12} a 10^{-9} M, 10^{-12} a 10^{-10} M, 10^{-11} a 10^{-8} M, preferiblemente de aproximadamente 10^{-11} a 10^{-9} M. Puede evaluarse rápidamente si un dominio de unión reacciona específicamente con, o se une a, una diana, mediante, entre otros, comparación de la reacción de dicho dominio de unión con una proteína o antígeno diana, con la reacción de dicho dominio de unión con proteínas o antígenos distintos del PSMA o CD3. Preferiblemente, un dominio de unión de la invención no se une esencialmente o sustancialmente a proteínas o antígenos distintos de PSMA o CD3 (es decir, el primer dominio de unión no es capaz de unirse a proteínas distintas de PSMA y el segundo dominio de unión no es capaz de unirse a proteínas distintas de CD3). Es una característica contemplada de los constructos de anticuerpo de acuerdo con la presente invención que tengan características de afinidad superior en comparación con otros formatos HLE. Tal afinidad superior, en consecuencia, sugiere una vida media *in vivo* prolongada. La vida media más larga de los constructos de anticuerpo de acuerdo con la presente invención puede reducir la duración y frecuencia de administración, lo cual típicamente contribuye a un cumplimiento mejorado por parte de los pacientes. Esto es de particular importancia, ya que los constructos de anticuerpo de la presente invención son particularmente beneficiosos para pacientes altamente debilitados o incluso con cáncer multimórbido.

[60] La expresión “no se une esencialmente/sustancialmente” o “no es capaz de unirse a” significa que un dominio de unión de la presente invención no se une a una proteína o antígeno distinto del PSMA o CD3, es decir, no muestra reactividad de más del 30%, preferiblemente no más del 20%, más preferiblemente no más del 10%, particularmente preferiblemente no más del 9%, 8%, 7%, 6% o 5% con proteínas o antígenos distintos de PSMA o CD3, en donde la unión al PSMA o CD3, respectivamente, se establece en 100%.

[61] Se cree que la unión específica es efectuada por motivos específicos en la secuencia de aminoácidos del dominio de unión y del antígeno. Así, la unión se logra como resultado de su estructura primaria, secundaria y/o terciaria, así como también, como resultado de modificaciones secundarias de dichas estructuras. La interacción específica del sitio de interacción con el antígeno con su antígeno específico puede resultar en una unión simple de dicho sitio al antígeno. Más aún, la interacción específica del sitio de interacción con antígeno con su antígeno específico puede resultar alternativamente o adicionalmente en el inicio de una señal, por ej., debido a la inducción de un cambio de la conformación del antígeno, una oligomerización del antígeno, etc.

[62] El término “variable” se refiere a las porciones del anticuerpo o a los dominios de inmunoglobulina que exhiben variabilidad en su secuencia y que están involucrados en la determinación de la especificidad y afinidad de unión de un anticuerpo particular (es decir, los “dominios variables”). El apareamiento de una cadena pesada variable (VH) y una cadena liviana variable (VL) en conjunto forma un único sitio de unión a antígeno.

[63] La variabilidad no está uniformemente distribuida a lo largo de los dominios variables de los anticuerpos; está concentrada en sub-dominios de cada una de las regiones variables de las cadenas pesada y liviana. Estos sub-dominios son denominados “regiones hipervariables” o “regiones determinantes de complementariedad” (CDRs, por sus siglas en inglés). Las porciones más conservadas (es decir, no-hipervariables) de los dominios variables son denominadas las regiones “de estructura” (FRM o FR) y proveen un esqueleto para las seis CDRs en el espacio tridimensional para formar una superficie de unión a antígeno. Los dominios variables de cadenas pesada y liviana naturales comprenden cada uno cuatro regiones FRM (FR1, FR2, FR3, y FR4), adoptando en gran medida una configuración de lámina β , conectadas mediante tres regiones hipervariables, las cuales forman bucles que conectan, y en algunos casos forman parte de, la estructura de lámina β . Las regiones hipervariables en cada cadena están mantenidas juntas en proximidad cercana mediante las FRMs y, con las regiones hipervariables de la otra cadena, contribuyen a la formación del sitio de unión a antígeno (ver Kabat *et al.*, *loc. cit.*).

[64] Los términos “CDR”, y su plural “CDRs”, se refieren a las regiones determinantes de complementariedad de las cuales tres forman el carácter de unión de una región variable de cadena liviana (CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3) y tres forman el carácter de unión de una región variable de cadena pesada (CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3). Las CDRs contienen la mayoría de los residuos responsables de las interacciones específicas del anticuerpo con el antígeno, y por lo tanto, contribuyen a la actividad funcional de una molécula de anticuerpo: son los principales determinantes de la especificidad de antígeno.

[65] La definición exacta de los límites y las longitudes de las CDR están sujetos a diferentes sistemas de clasificación y numeración. Las CDRs pueden por lo tanto ser referidas mediante Kabat, Chothia, por contacto o cualquier otra definición de límite, incluyendo el sistema de numeración descrito en la presente. A pesar de que los límites difieren, cada uno de estos sistemas tiene algún grado de solapamiento en lo que constituye las, así denominadas, “regiones hipervariables” dentro de las secuencias variables. Las definiciones de CDR de acuerdo con estos sistemas pueden por lo tanto diferir en longitud y áreas límite con respecto a la región de estructura adyacente. Ver por ejemplo Kabat (una aproximación basada en la variabilidad de secuencias entre especies), Chothia (un enfoque basado en

estudios cristalográficos de complejos antígeno-anticuerpo), y/o MacCallum (Kabat *et al.*, *loc. cit.*; Chothia *et al.*, J. Mol. Biol, 1987, 196: 901-917; y MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol, 1996, 262: 732). Aún otro estándar para caracterizar el sitio de unión a antígeno es la definición de AbM utilizada por el programa de modelado de anticuerpos AbM de Oxford Molecular. Ver, *por ej.*, *Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains*. En: *Antibody Engineering Lab Manual* (Ed.: Duebel, S. y Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg). En tanto dos técnicas de identificación de residuos definen regiones de solapamiento, pero no regiones idénticas, las mismas pueden ser combinadas para definir una CDR híbrida. No obstante, se prefiere la numeración de acuerdo al, así denominado, sistema Kabat.

10 **[66]** Típicamente, las CDRs forman una estructura de bucle que puede ser clasificada como una estructura canónica. La expresión “estructura canónica” se refiere a la principal conformación de cadena que es adoptada por los bucles de unión a antígeno (CDR). A partir de estudios estructurales comparativos, se ha encontrado que cinco de los seis bucles de unión a antígeno tienen solamente un limitado repertorio de conformaciones disponibles.

15 Cada estructura canónica puede ser caracterizada mediante ángulos de torsión del esqueleto polipeptídico. Los bucles correspondientes entre anticuerpos pueden, por lo tanto, tener estructuras tridimensionales muy similares, a pesar de la elevada variabilidad de secuencia de aminoácidos en la mayoría de las partes de los bucles (Chothia y Lesk, J. Mol. Biol., 1987, 196: 901; Chothia *et al.*, Nature, 1989, 342: 877; Martin y Thornton, J. Mol. Biol, 1996, 263: 800). Además, existe una relación entre la estructura adoptada por el bucle y las secuencias de aminoácidos que lo rodean. La conformación de una clase canónica en particular está determinada por la longitud del bucle y los residuos aminoácidos que residen en posiciones clave dentro del bucle, así como también dentro de la estructura conservada (es decir, fuera del bucle). La asignación a una clase canónica en particular puede por lo tanto realizarse en

20 base a la presencia de estos residuos aminoácidos claves.

[67] La expresión “estructura canónica” también puede incluir consideraciones tales como la secuencia lineal del anticuerpo, por ejemplo, tal como catalogado por Kabat (Kabat *et al.*, *loc. cit.*). El esquema (sistema) de numeración de Kabat es un estándar ampliamente adoptado para la numeración de residuos aminoácido de un dominio variable de anticuerpo

30 de una manera consistente y es el esquema preferido aplicado en la presente invención como también se menciona en otra parte en la presente. También pueden utilizarse consideraciones estructurales adicionales para determinar la estructura canónica de un anticuerpo. Por ejemplo, aquellas diferencias no completamente reflejadas por la numeración de Kabat pueden describirse mediante el sistema de numeración de Chothia *et al.* y/o pueden revelarse

35 mediante otras técnicas, por ejemplo, cristalografía y modelado computacional en dos o tres dimensiones. Por consiguiente, una dada secuencia de anticuerpo puede ser ubicada dentro

de una clase canónica lo que permite, entre otras cosas, identificar las secuencias esqueleto apropiadas (por ej., basadas en un deseo de incluir una variedad de estructuras canónicas en una biblioteca). La numeración de Kabat de las secuencias de aminoácidos de un anticuerpo y las consideraciones estructurales como se describe en Chothia *et al.*, *loc. cit.* y sus implicancias para construir aspectos canónicos de la estructura del anticuerpo están descriptas en la literatura. Las estructuras de las subunidades y las configuraciones tridimensionales de diferentes clases de inmunoglobulinas son bien conocidas en el arte. Para una revisión de la estructura de un anticuerpo, ver *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, eds. Harlow *et al.*, 1988.

5 [68] La CDR3 de la cadena liviana y, particularmente, la CDR3 de la cadena pesada, pueden constituir los determinantes más importantes en la unión a antígeno dentro de las regiones variables de las cadenas liviana y pesada. En algunos constructos de anticuerpo, la CDR3 de la cadena pesada parece constituir la mayor área de contacto entre el antígeno y el anticuerpo. Los esquemas de selección *in vitro*, en los cuales sólo la CDR3 es variada, 15 pueden ser utilizados para variar las propiedades de unión de un anticuerpo o para determinar cuáles residuos contribuyen a la unión de un antígeno. Por lo tanto, la CDR3 es típicamente la fuente más grande de diversidad molecular dentro del sitio de unión del anticuerpo. La H3, por ejemplo, puede ser tan corta como dos residuos aminoácido o más grande que 26 aminoácidos.

20 [69] En un anticuerpo, o inmunoglobulina, de longitud completa clásico, cada cadena liviana (L) está unida a una cadena pesada (H) mediante un enlace disulfuro covalente, mientras que las dos cadenas H están unidas entre sí mediante uno o más enlaces disulfuro, dependiendo del isotipo de la cadena H. El dominio CH más próximo a VH es normalmente designado como CH1. Los dominios constantes ("C") no están directamente involucrados en la unión a 25 antígeno, pero exhiben diversas funciones efectoras, tales como citotoxicidad dependiente de anticuerpo mediada por células y activación de complemento. La región Fc de un anticuerpo está comprendida dentro de los dominios constantes de la cadena pesada y es capaz, por ejemplo, de interactuar con los receptores Fc ubicados en la superficie celular.

[70] La secuencia de los genes de anticuerpo luego del ensamblado y la mutación somática es altamente variada, y se estima que estos genes variados codifican para 10^{10} moléculas de anticuerpo diferentes (Immunoglobulin Genes, 2^{da} ed., eds. Jonio *et al.*, Academic Press, San Diego, CA, 1995). Por consiguiente, el sistema inmune provee un repertorio de inmunoglobulinas. El término "repertorio" se refiere a al menos una secuencia nucleotídica derivada enteramente o parcialmente de al menos una secuencia que codifica para al menos 35 una inmunoglobulina. La/s secuencia/s puede/n ser generada/s mediante reordenamiento *in*

vivo de los segmentos V, D, y J de las cadenas pesadas, y los segmentos V y J de las cadenas livianas. Alternativamente, la/s secuencia/s puede/n ser generada/s a partir de una célula en respuesta a lo cual ocurre el reordenamiento, por ej., estimulación *in vitro*. Alternativamente, una parte o toda/s la/s secuencia/s puede/n ser obtenida/s mediante corte y empalme (splicing) de ADN, síntesis de nucleótidos, mutagénesis, y otros métodos, ver por ej., la patente US 5.565.332. Un repertorio puede incluir solamente una secuencia o puede incluir una pluralidad de secuencias, incluyendo unas en una colección genéticamente diversa.

[71] La expresión “porción de Fc” o “monómero de Fc” significa, en conexión con esta invención, un polipéptido que comprende al menos un dominio que tiene la función de un dominio CH2 y al menos un dominio que tiene la función de un dominio CH3 de una molécula de inmunoglobulina. Como es evidente de la expresión “monómero de Fc”, el polipéptido que comprende aquellos dominios CH es un “monómero polipeptídico”. Un monómero Fc puede ser un polipéptido que comprende al menos un fragmento de la región constante de una inmunoglobulina excluyendo el primer dominio de inmunoglobulina de región constante de la cadena pesada (CH1), pero manteniendo al menos una parte funcional de un dominio CH2 y una parte funcional de un dominio CH3, en donde el dominio CH2 es amino terminal respecto del dominio CH3. En un primer aspecto preferido de esta definición, un monómero Fc puede ser una región constante de un polipéptido que comprende una porción de la región bisagra Ig-Fc, una región CH2 y una región CH3, en donde la región bisagra es amino terminal respecto del dominio CH2. Está contemplado que la región bisagra de la presente invención promueva la dimerización. Tales moléculas polipeptídicas Fc pueden ser obtenidas mediante digestión con papaína de una región de inmunoglobulina (por supuesto dando por resultado un dímero de dos polipéptidos Fc), por ejemplo y sin limitación. En otro aspecto de esta definición, un monómero Fc puede ser una región polipeptídica que comprende una porción de una región CH2 y una región CH3. Tales moléculas polipeptídicas de Fc pueden ser obtenidas mediante digestión con pepsina de una molécula de inmunoglobulina, por ejemplo y sin limitación. En una forma de realización, la secuencia polipeptídica de un monómero Fc es sustancialmente similar a una secuencia polipeptídica Fc de: una región Fc de IgG₁, una región Fc de IgG₂, una región Fc de IgG₃, una región Fc de IgG₄, una región Fc de IgM, una región Fc de IgA, una región Fc de IgD y una región Fc de IgE. (Ver, por ej. Padlan, Molecular Immunology, 31(3), 169-217 (1993)). Debido a que existe alguna variación entre inmunoglobulinas, y solamente por claridad, monómero Fc se refiere a los dos últimos dominios de inmunoglobulina de la región constante de la cadena pesada de IgA, IgD e IgG, y los últimos tres dominios de inmunoglobulina de la región constante de la cadena pesada de IgE e IgM. Como se mencionó, el monómero Fc también puede incluir la bisagra flexible N-terminal respecto de estos dominios. Para IgA e IgM, el monómero Fc puede incluir la cadena J. Para IgG, la porción Fc comprende los dominios de inmunoglobulina CH2 y CH3 y la bisagra entre

los dos primeros dominios y CH2. Aunque los límites de la porción Fc pueden variar, un ejemplo para la porción Fc de la cadena pesada de IgG humana que comprende una bisagra funcional, dominios CH2 y CH3, puede ser definido por ej. para comprender los residuos D231 (del dominio bisagra – que corresponde a D234 en la Tabla 1 a continuación) hasta P476, respectivamente L476 (para IgG₄) del extremo carboxi-terminal del dominio CH3, en donde la numeración está de acuerdo con Kabat. Ambos, la porción Fc o el monómero Fc, los cuales están fusionados entre sí mediante un enlazador peptídico, definen el tercer dominio del constructo de anticuerpo de la invención, el cual también puede estar definido como dominio scFc.

- 10 **[72]** En una forma de realización de la invención, se contempla que un dominio scFc como se describe en la presente, respectivamente los monómeros Fc fusionados entre sí están comprendidos solamente en el tercer dominio del constructo de anticuerpo.

En línea con la presente invención, una región bisagra de IgG puede ser identificada por analogía utilizando la numeración de Kabat como se expresa en la Tabla 1. En línea con lo anterior, el requerimiento mínimo contempla que un dominio/región bisagra de la presente invención en línea con la presente invención comprende los residuos aminoácido que corresponden al tramo de la secuencia de IgG1 de D231 D234 a P243 de acuerdo con la numeración de Kabat. De manera similar, está contemplado que un dominio/región bisagra de la presente invención comprenda o consista de la secuencia bisagra de IgG1 DKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 477) (correspondiente al tramo D234 a P243 como se muestra en la Tabla 1 a continuación – variaciones de dicha secuencia también están contempladas siempre que la región bisagra aún promueva la dimerización). En una forma de realización preferida de la invención, el sitio de glicosilación en la posición Kabat 314 de los dominios CH2 en el tercer dominio del constructo de anticuerpo está removido mediante una sustitución N314X, en donde X es cualquier aminoácido excluyendo Q. Dicha sustitución es preferiblemente una sustitución N314G. En una forma de realización más preferida, dicho dominio CH2 adicionalmente comprende las siguientes sustituciones (posición de acuerdo con Kabat) V321C y R309C (estas sustituciones introducen el puente disulfuro entre cisteínas intradominio en las posiciones Kabat 309 y 321).

30 También está contemplado que el tercer dominio del constructo de anticuerpo de la invención comprende o consiste, en el orden amino a carboxilo: DKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 477) (es decir, bisagra) -CH2-CH3-enlazador- DKTHTCPPCP (SEQ ID NO: 477) (es decir, bisagra) -CH2-CH3. El enlazador peptídico del constructo de anticuerpo anteriormente mencionado está caracterizado, en una forma de realización preferida, mediante la secuencia de aminoácidos Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, es decir, Gly4Ser (SEQ ID NO: 1), o polímeros de la misma,

es decir, (Gly4Ser) x , donde x es un entero de 5 o mayor (por ej., 5, 6, 7, 8 etc. o mayor), siendo preferido el 6 ((Gly4Ser) $_6$). Dicho constructo puede además comprender las sustituciones anteriormente mencionadas N314X, preferiblemente N314G, y/o las sustituciones adicionales V321C y R309C. En una forma de realización preferida de los constructos de anticuerpo de la invención como se define anteriormente en la presente, está contemplado que el segundo dominio se una a un epítipo extracelular de la cadena CD3 ϵ humana y/o de *Macaca*.

Tabla 1: Numeración de Kabat de los residuos aminoácidos de la región bisagra

Numeración IMGT para la bisagra	Traducción de aminoácidos de IgG $_1$	Numeración Kabat
1	(E)	226
2	P	227
3	K	228
4	S	232
5	C	233
6	D	234
7	K	235
8	T	236
9	H	237
10	T	238
11	C	239
12	P	240
13	P	241
14	C	242
15	P	243

En formas de realización adicionales de la presente invención, el dominio/región bisagra comprende o consiste en la secuencia bisagra del subtipo IgG2 ERKCCVECP $_{10}$ PCP (SEQ ID NO: 478), la secuencia bisagra del subtipo IgG3 ELKTPLDTTHTCPR $_{10}$ PCP (SEQ ID NO: 479) o ELKTPLGDTTHTCPR $_{10}$ PCP (SEQ ID NO: 486), y/o la secuencia bisagra del subtipo IgG4 ESKYGPPCP $_{10}$ S $_{10}$ PCP (SEQ ID NO: 480). La secuencia bisagra del subtipo IgG1 puede ser la siguiente EPKSCDKTHTCPR $_{10}$ PCP (como se muestra en la Tabla 1 y en SEQ ID NO: 487). Estas regiones núcleo bisagra están por lo tanto contempladas en el contexto de la presente invención.

[73] La ubicación y secuencia de los dominios IgG CH2 e IgG CD3 pueden ser identificadas por analogía utilizando la numeración de Kabat como se expresa en la Tabla 2

Tabla 2: Numeración Kabat de los residuos aminoácido de la región IgG CH2 y CH3

Subtipo de IgG	Traducción aa de CH2	Numeración Kabat de CH2	Traducción aa de CH3	Numeración Kabat de CH3
IgG₁	APE... ..KAK	244... ..360	GQP.....PGK	361... ..478
IgG₂	APP... ..KTK	244... ..360	GQP.....PGK	361... ..478
IgG₃	APE... ..KTK	244... ..360	GQP.....PGK	361... ..478
IgG₄	APE... ..KAK	244... ..360	GQP.....LGK	361... ..478

[74] En una forma de realización de la invención, están delecionados los residuos aminoácido enfatizados en negrita en el dominio CH3 del primero o de ambos monómeros Fc.

[75] El enlazador peptídico mediante el cual están fusionados entre sí los monómeros polipeptídicos (“porción Fc” o “monómero Fc”) del tercer dominio, preferiblemente comprende al menos 25 residuos aminoácido (25, 26, 27, 28, 29, 30 etc.). Más preferiblemente, este enlazador peptídico comprende al menos 30 residuos aminoácido (30, 31, 32, 33, 34, 35, etc.). También se prefiere que el enlazador comprenda hasta 40 residuos aminoácido, más preferiblemente hasta 35 residuos aminoácido, lo más preferible exactamente 30 residuos aminoácido. Una forma de realización preferida de tal enlazador peptídico está caracterizada por la secuencia de aminoácidos Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, es decir Gly₄Ser (SEQ ID NO: 1), o polímeros de la misma, es decir (Gly₄Ser)_x, en donde x es un entero de 5 o mayor (por ej. 6, 7 u 8). Preferiblemente el entero es 6 o 7, más preferiblemente el entero es 6.

[76] En caso de que se utilice un enlazador para fusionar el primer dominio de unión al segundo dominio de unión, o el primer o segundo dominio al tercer dominio, este enlazador es preferiblemente de una longitud y secuencia suficientes para asegurar que cada uno de los dominios primero y segundo puedan, independientemente entre sí, retener sus especificidades de unión diferenciales. Para los enlazadores peptídicos que conectan los al menos dos dominios de unión (o dos dominios variables) en el constructo de anticuerpo de la invención, se prefieren aquellos enlazadores peptídicos que comprenden solamente un pequeño número de residuos aminoácido, por ej., 12 residuos aminoácido o menos. Así, se prefieren los enlazadores peptídicos de 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 o 5 residuos aminoácido. Un enlazador peptídico concebido con menos de 5 aminoácidos comprende 4, 3, 2 o un aminoácido/s, en donde, se prefieren los enlazadores ricos en Gly. Una forma de realización preferida del enlazador peptídico para una fusión del primer y el segundo dominio está descrita en la SEQ ID NO:1. Una forma de realización preferida del enlazador peptídico para fusionar el segundo y tercer dominio es un enlazador (Gly)₄, también llamado enlazador G₄.

[77] Un aminoácido “único” particularmente preferido en el contexto de uno de los anteriormente descritos “enlazadores peptídicos” es Gly. Por consiguiente, dicho enlazador peptídico puede consistir del único aminoácido Gly. En una forma de realización preferida de

la invención, un enlazador peptídico está caracterizado por la secuencia de aminoácidos Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, es decir Gly₄Ser (SEQ ID NO: 1), o polímeros de la misma, es decir (Gly₄Ser)_x, donde x es un entero de 1 o mayor (por ej., 2 o 3). Los enlazadores preferidos están mostrados en SEQ ID NOs: 1 a 12. Las características de dicho enlazador peptídico, que comprende la ausencia de la promoción de estructuras secundarias, son conocidas en el arte y se describen por ej., en Dall'Acqua *et al.* (Biochem. (1998) 37, 9266-9273), Cheadle *et al.* (Mol Immunol (1992) 29, 21-30) y Raag y Whitlow (FASEB (1995) 9(1), 73-80). Se prefieren los enlazadores peptídicos que además no promueven ninguna estructura secundaria. La unión de dichos dominios entre sí puede proveerse, por ej., mediante ingeniería genética, como se describe en los ejemplos. Los métodos para preparar constructos de cadena única biespecíficos fusionados y operativamente unidos y para expresarlos en células de mamífero o en bacterias, son bien conocidos en el arte (por ej., WO 99/54440 o Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, 2001).

[78] En una forma de realización preferida del constructo de anticuerpo de la presente invención, el primer y segundo dominio de unión forman un constructo de anticuerpo en un formato seleccionado del grupo que consiste en (scFv)₂, mAb de dominio único scFv, diacuerpo y oligómeros de cualquiera de esos formatos.

[79] De acuerdo con una forma de realización particularmente preferida, y tal como está documentado en los ejemplos anexos, el primero y segundo dominios del constructo de anticuerpo de la invención es un “constructo de anticuerpo biespecífico de cadena única”, más preferiblemente un “Fv de cadena única” (scFv) biespecífico. A pesar de que los dos dominios del fragmento Fv, VL y VH, están codificados por genes separados, pueden ser unidos, utilizando métodos recombinantes, mediante un enlazador sintético –como se describe anteriormente en la presente– que les permite ser preparados como una única cadena proteica en la cual las regiones VL y VH se aparean para formar una molécula monovalente; ver por ej., Huston *et al.* (1988) Proc. Natl. Acad. Sci EE.UU. 85:5879-5883). Estos fragmentos de anticuerpo son obtenidos utilizando técnicas convencionales conocidas por aquellos expertos en el arte, y los fragmentos son evaluados en cuanto a su función, de la misma manera que lo son los anticuerpos enteros o de longitud completa. Un fragmento variable de cadena única (scFv) es por lo tanto una proteína de fusión de la región variable de la cadena pesada (VH) y de la cadena liviana (VL) de inmunoglobulinas, normalmente conectada con un enlazador peptídico corto de aproximadamente diez a aproximadamente 25 aminoácidos, preferiblemente aproximadamente 15 a 20 aminoácidos. El enlazador es normalmente rico en glicina para flexibilidad, así como también en serina o treonina para solubilidad, y puede conectar ya sea el extremo N-terminal de la VH con el extremo C-terminal de la VL, o

viceversa. Esta proteína retiene la especificidad de la inmunoglobulina original, a pesar de la remoción de las regiones constantes y de la introducción del enlazador.

[80] Los constructos de anticuerpo biespecíficos de cadena única son conocidos en el arte y se describen en WO 99/54440, Mack, J. Immunol. (1997), 158, 3965-3970, Mack, PNAS, (1995), 92, 7021-7025, Kufer, Cancer Immunol. Immunother., (1997), 45, 193-197, Löffler, Blood, (2000), 95, 6, 2098-2103, Brühl, Immunol., (2001), 166, 2420-2426, Kipriyanov, J. Mol. Biol., (1999), 293, 41-56. Las técnicas descritas para la producción de anticuerpos de cadena única (ver, entre otros, la patente US 4.946.778, Kontermann y Dübel (2010), *loc. cit.* y Little (2009), *loc. cit.*) pueden adaptarse para producir constructos de anticuerpo de cadena única que reconocen específicamente (una/o más) diana/s elegida/s.

[81] Los fragmentos variables de cadena única, bivalentes (también denominados divalentes) o biespecíficos (bi-scFvs o di-scFvs) que tienen el formato (scFv)₂ pueden ser preparados mediante ingeniería genética mediante unión de dos moléculas scFv (por ej., con los enlazadores descritos anteriormente en la presente). Si estas dos moléculas scFv tienen la misma especificidad de unión, la molécula resultante (scFv)₂ será preferiblemente denominada bivalente (es decir, tiene dos valencias para el mismo epítope diana). Si las dos moléculas scFv tienen diferentes especificidades de unión, la molécula resultante (scFv)₂ será preferiblemente denominada biespecífica. La unión puede realizarse produciendo una cadena peptídica única con dos regiones VH y dos regiones VL, brindando scFvs en tándem (ver por ej., Kufer P. *et al.*, (2004) *Trends in Biotechnology* 22(5):238-244). Otra posibilidad es la creación de moléculas scFv con péptidos enlazadores que son demasiado cortos para que las dos regiones variables se plieguen juntas (por ej., aproximadamente cinco aminoácidos), forzando a que las scFvs se dimericen. Este tipo es conocido como diacuerpos (ver por ej, Hollinger, Philipp *et al.*, (July 1993) *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90 (14): 6444-8).

[82] En línea con esta invención, tanto el primero como el segundo o el primero y el segundo dominio pueden comprender un anticuerpo de dominio único, respectivamente el dominio variable o al menos las CDRs de un anticuerpo de dominio único. Los anticuerpos de dominio único comprenden meramente un dominio (monomérico) variable de anticuerpo que es capaz de unirse selectivamente a un antígeno específico, independientemente de otras regiones o dominios V. Los primeros anticuerpos de dominio único fueron preparados mediante ingeniería a partir de anticuerpos de cadena pesada encontrados en camélidos, y estos fueron denominados fragmentos V_{HH}. Los peces cartilaginosos también tienen anticuerpos de cadena pesada (IgNAR) a partir de los cuales se pueden obtener anticuerpos de dominio único denominados fragmentos V_{NAR}. Un enfoque alternativo es dividir los

dominios variables diméricos a partir de inmunoglobulinas comunes, por ej., a partir de humanos o roedores en monómeros, obteniendo así VH o VL como un Ab de dominio único. A pesar de que la mayoría de las investigaciones sobre anticuerpos de dominio único están actualmente basadas en dominios variables de cadena pesada, los nanocuerpos derivados a partir de cadenas livianas también han demostrado unirse específicamente a epítopes diana. Ejemplos de anticuerpos de dominio único se denominan sdAb, nanocuerpos o anticuerpos de dominio variable único.

[83] Un (mAb de dominio único)₂ es por lo tanto, un constructo de anticuerpo monoclonal compuesto de (al menos) dos anticuerpos monoclonales de dominio único, los cuales están individualmente seleccionados a partir del grupo que comprende VH, VL, V_{HH} y V_{NAR}. El enlazador está preferiblemente en la forma de un enlazador peptídico. De manera similar, un “mAb de dominio único scFv” es un constructo de anticuerpo monoclonal compuesto de al menos un anticuerpo de dominio único como se describió anteriormente y una molécula scFv como se describió anteriormente. Nuevamente, el enlazador está preferiblemente en la forma de un enlazador peptídico.

[84] Que un constructo de anticuerpo compita o no por la unión con otro dado constructo de anticuerpo se puede medir en un ensayo de competición tal como un ELISA competitivo o un ensayo de competición en base a células. También pueden utilizarse micropartículas (perlas) acopladas a avidina. De manera similar a la placa para ELISA recubierta con avidina, cuando se hace reaccionar con una proteína biotinilada, cada una de estas perlas puede utilizarse como sustrato sobre el cual puede llevarse a cabo un ensayo. Se recubre una perla con el antígeno y luego se pre-recubre con el primer anticuerpo. Se agrega el segundo anticuerpo y se determina cualquier unión adicional. Posibles medios para las lecturas incluyen citometría de flujo.

[85] Las células T o linfocitos T son un tipo de linfocito (en sí, un tipo de glóbulo blanco) que juegan un rol central en la inmunidad mediada por células. Existen varios subconjuntos de células T, cada una con una función distinta. Las células T pueden distinguirse de otros linfocitos, tales como células B y células NK, por la presencia de un receptor de célula T (TCR) sobre la superficie celular. El TCR es responsable del reconocimiento de antígenos unidos a moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC, por sus siglas en inglés) y está compuesto de dos cadenas proteicas diferentes. En el 95% de las células T, los TCR consisten en una cadena alfa (α) y una beta (β). Cuando el TCR interacciona con un péptido antigénico y el MHC (complejo péptido / MHC), el linfocito T es activado a través de una serie de eventos bioquímicos mediados por enzimas asociadas, co-receptores, moléculas adaptadoras especializadas, y factores de transcripción activados o liberados.

[86] El complejo de receptores CD3 es un complejo proteico y está compuesto de cuatro cadenas. En mamíferos, el complejo contiene una cadena CD3 γ (gamma), una cadena CD3 δ (delta), dos cadenas CD3 ϵ (épsilon). Estas cadenas se asocian con el receptor de célula T (TCR) y la -así denominada- cadena ζ (zeta) para formar el complejo receptor de célula T - CD3 y para generar una señal de activación en linfocitos T. Las cadenas CD3 γ (gamma), CD3 δ (delta), y CD3 ϵ (épsilon) son proteínas de la superficie celular altamente relacionadas de la superfamilia de inmunoglobulinas que contiene un único dominio extracelular de inmunoglobulina. Las colas intracelulares de las moléculas de CD3 contienen un único motivo conservado conocido como un motivo inmunorreceptor de activación basado en tirosina, o ITAM para abreviar, el cual es esencial para la capacidad de señalización del TCR. La molécula de CD3 ϵ es un polipéptido que en humanos está codificado por el gen *CD3E* el cual reside en el cromosoma 11. El epítipo de CD3 ϵ más preferido está comprendido dentro de los residuos aminoácido 1-27 del dominio extracelular de CD3 ϵ humano. Está contemplado que los constructos de anticuerpo de acuerdo con la presente invención típica y ventajosamente muestren menor activación de células T no específica, la cual no es deseada en la inmunoterapia específica. Esto se traduce en un reducido riesgo de efectos colaterales.

[87] La lisis redirigida de células diana mediante el reclutamiento de células T por un constructo de anticuerpo multiespecífico, al menos biespecífico, involucra la formación de sinapsis citolítica y la entrega de perforina y granzimas. Las células T involucradas son capaces de lisis seriada de células diana, y no están afectadas por los mecanismos de escape inmune que interfieren con el procesamiento y la presentación de antígeno peptídico, o la diferenciación clonal de células T; ver, por ejemplo, WO 2007/042261.

[88] La citotoxicidad mediada por constructos de anticuerpo de la invención puede medirse de diversos modos. Las células efectoras pueden ser por ej., células T CD8 positivas (humanas) enriquecidas estimuladas o células (humanas) mononucleares de sangre periférica (PBMC, por sus siglas en inglés) no estimuladas. Si las células diana son de origen de macaco o expresan o son transfectadas con PSMA de macaco que es ligado por el primer dominio, las células efectoras deberán también ser de origen de macaco tal como una línea de células T de macaco, por ej., 4119LnPx. Las células diana deberán expresar (al menos el dominio extracelular de) PSMA, por ej., PSMA humano o de macaco. Las células diana pueden ser una línea celular (tal como CHO) la cual está transfectada de manera estable o transiente con PSMA, por ej., PSMA humano o de macaco. Normalmente, se espera que los valores de EC₅₀ sean menores con líneas celulares diana que expresan niveles más altos de PSMA sobre la superficie celular. La relación de células efectoras a diana (E:T) es normalmente aproximadamente 10:1, pero también puede variar. La actividad citotóxica de los constructos de anticuerpo biespecíficos PSMAxCD3 puede medirse en un ensayo de

liberación de ^{51}Cr (tiempo de incubación de aproximadamente 18 horas) o en un ensayo de citotoxicidad basado en FACS (tiempo de incubación de aproximadamente 48 horas). También son posibles las modificaciones del tiempo de incubación del ensayo (reacción citotóxica). Otros métodos para medir citotoxicidad son bien conocidos por la persona experta y comprenden ensayos de MTT o de MTS, ensayos basados en ATP, que incluyen ensayos bioluminiscentes, el ensayo de sulforrodamina B (SRB), el ensayo WST, el ensayo clonogénico y la tecnología ECIS.

[89] La actividad citotóxica mediada por los constructos de anticuerpo biespecíficos PSMAxCD3 de la presente invención se mide preferiblemente en un ensayo de citotoxicidad en base a células. También puede medirse en un ensayo de liberación de ^{51}Cr . Está representado por el valor de EC_{50} , el cual corresponde a la mitad de la concentración efectiva máxima (concentración del constructo de anticuerpo que induce una respuesta citotóxica a mitad de camino entre la línea de base y el máximo). Preferiblemente, el valor de EC_{50} de los constructos de anticuerpo biespecíficos PSMAxCD3 es ≤ 5000 pM o ≤ 4000 pM, más preferiblemente ≤ 3000 pM o ≤ 2000 pM, incluso más preferiblemente ≤ 1000 pM o ≤ 500 pM, incluso más preferiblemente ≤ 400 pM o ≤ 300 pM, incluso más preferiblemente ≤ 200 pM, incluso más preferiblemente ≤ 100 pM, incluso más preferiblemente ≤ 50 pM, incluso más preferiblemente ≤ 20 pM o ≤ 10 pM, y lo más preferible ≤ 5 pM.

[90] Los anteriores valores de EC_{50} pueden medirse en diferentes ensayos. La persona experta está al tanto de que puede esperarse que el valor de EC_{50} sea más bajo cuando se utilizan células T CD8+ estimuladas/enriquecidas como células efectoras, en comparación con PBMC no estimuladas. Además, puede esperarse que los valores de EC_{50} sean más bajos cuando las células expresan un elevado número de PSMA en comparación con una tasa baja de expresión de la diana. Por ejemplo, cuando se utilizan células T CD8+ humanas estimuladas/enriquecidas como células efectoras (y ya sea que se utilicen células transfectadas con PSMA tales como células CHO o líneas celulares humanas PSMA positivas como células diana), el valor de EC_{50} del constructo de anticuerpo biespecífico PSMAxCD3 es preferiblemente ≤ 1000 pM, más preferiblemente ≤ 500 pM, incluso más preferiblemente ≤ 250 pM, incluso más preferiblemente ≤ 100 pM, incluso más preferiblemente ≤ 50 pM, incluso más preferiblemente ≤ 10 pM, y lo más preferible ≤ 5 pM. Cuando se utilizan PBMCs humanas como células efectoras, el valor de EC_{50} del constructo de anticuerpo biespecífico PSMAxCD3 es preferiblemente ≤ 5000 pM o ≤ 4000 pM (en particular, cuando las células diana son líneas celulares humanas PSMA positivas), más preferiblemente ≤ 2000 pM (en particular, cuando las células diana son células transfectadas con PSMA tal como células CHO), más preferiblemente ≤ 1000 pM o ≤ 500 pM, incluso más preferiblemente ≤ 200 pM, incluso más preferiblemente ≤ 150 pM, incluso más preferiblemente ≤ 100 pM, y lo más preferible ≤ 50 pM,

o menor. Cuando se utiliza una línea de células T de macaco tal como LnPx4119 como células efectoras, y se utiliza una línea de células transfectadas con PSMA de macaco tal como células CHO como línea celular diana, el valor de EC_{50} del constructo de anticuerpo biespecífico PSMAxCD3 es preferiblemente ≤ 2000 pM o ≤ 1500 pM, más preferiblemente ≤ 1000 pM o ≤ 500 pM, incluso más preferiblemente ≤ 300 pM o ≤ 250 pM, incluso más preferiblemente ≤ 100 pM, y lo más preferible ≤ 50 pM.

[91] Preferiblemente, los constructos de anticuerpo biespecíficos PSMAxCD3 de la presente invención no inducen/median la lisis ni esencialmente inducen/median la lisis de las células PSMA negativas tales como células CHO. La expresión “no induce la lisis”, “no induce esencialmente la lisis”, “no media la lisis” o “no media esencialmente la lisis”, significa que un constructo de anticuerpo de la presente invención no induce ni media la lisis de más del 30%, preferiblemente no más del 20%, más preferiblemente no más del 10%, particularmente preferiblemente no más del 9%, 8%, 7%, 6% o 5% de las células PSMA negativas, en donde la lisis de una línea celular humana PSMA positiva se establece en 100%. Esto aplica normalmente para concentraciones del constructo de anticuerpo de hasta 500 nM. La persona experta sabe cómo medir la lisis celular sin complicaciones. Además, la presente descripción enseña las instrucciones específicas sobre cómo medir la lisis celular.

[92] La diferencia en actividad citotóxica entre la isoforma monomérica y la dimérica de los constructos de anticuerpo biespecíficos PSMAxCD3 individuales es referida como “diferencia de potencia”. Esta diferencia de potencia puede calcularse, por ej., como la relación entre los valores de EC_{50} de las formas monomérica y dimérica de la molécula. La diferencia de potencia de los constructos de anticuerpo biespecíficos PSMAxCD3 de la presente invención son preferiblemente ≤ 5 , más preferiblemente ≤ 4 , incluso más preferiblemente ≤ 3 , incluso más preferiblemente ≤ 2 , y lo más preferible ≤ 1 .

[93] El primer y/o segundo dominios de unión (o cualquier otro adicional) del constructo de anticuerpo de la invención es/son preferiblemente específico/s para especies cruzadas para los miembros del orden de mamíferos de primates. Los dominios de unión a CD3 específicos para especies cruzadas se describen por ejemplo, en WO 2008/119567. De acuerdo con una forma de realización, el primer y/o segundo dominio de unión, además de unirse a PSMA humano y CD3 humano, respectivamente, también se unirá a PSMA/CD3 de primates incluyendo (pero sin limitación) los monos del Nuevo Mundo (tales como *Callithrix jacchus*, *Saguinus Oedipus* o *Saimiri sciureus*), los monos del Viejo Mundo (tales como babuinos y macacos), gibones, y *homininae* no humano.

[94] En una forma de realización del constructo de anticuerpo de la invención, el primer dominio de unión se une a PSMA humano y además se une a PSMA de macaco, tal como

PSMA de *Macaca fascicularis*, y más preferiblemente, a PSMA de macaco expresado en la superficie de células de macaco. La afinidad del primer dominio para PSMA, preferiblemente para PSMA humano, es preferiblemente ≤ 100 nM o ≤ 50 nM, más preferiblemente ≤ 25 nM o ≤ 20 nM, más preferiblemente ≤ 15 nM o ≤ 10 nM, aún más preferiblemente ≤ 5 nM, aún más preferiblemente $\leq 2,5$ nM o ≤ 2 nM, aún más preferiblemente ≤ 1 nM, aún más preferiblemente $\leq 0,6$ nM, aún más preferiblemente $\leq 0,5$ nM, y lo más preferible $\leq 0,4$ nM. La afinidad puede ser medida por ejemplo en un ensayo BIAcore o en un ensayo Scatchard. Otros métodos para determinar la afinidad también son bien conocidos para la persona experta. La afinidad del primer dominio para PSMA de macaco es preferiblemente ≤ 15 nM, más preferiblemente ≤ 10 nM, aún más preferiblemente ≤ 5 nM, aún más preferiblemente ≤ 1 nM, aún más preferiblemente $\leq 0,5$ nM, aún más preferiblemente $\leq 0,1$ nM, y lo más preferible $\leq 0,05$ nM o incluso $\leq 0,01$ nM.

[95] Preferiblemente la diferencia de afinidad de los constructos de anticuerpo de acuerdo con la invención para unirse a PSMA de macaco versus PSMA humano [ma PSMA:hu PSMA] (como se determina por ej., mediante BiaCore o mediante análisis Scatchard) es < 100 , preferiblemente < 20 , más preferiblemente < 15 , adicionalmente preferiblemente < 10 , aún más preferiblemente < 8 , más preferiblemente < 6 y lo más preferible < 2 . Los rangos preferidos para la diferencia de afinidad de los constructos de anticuerpo de acuerdo con la invención para unirse a PSMA de macaco versus PSMA humano están entre 0,1 y 20, más preferiblemente entre 0,2 y 10, aún más preferiblemente entre 0,3 y 6, aún más preferiblemente entre 0,5 y 3 o entre 0,5 y 2,5, y lo más preferible entre 0,5 y 2 o entre 0,6 y 2.

[96] El segundo dominio de unión del constructo de anticuerpo de la invención se une a CD3 épsilon humano y/o a CD3 épsilon de *Macaca*. En una forma de realización preferida el segundo dominio de unión se une además a CD3 épsilon de *Callithrix jacchus*, *Saguinus oedipus* o *Saimiri sciureus*. Ambas *Callithrix jacchus* y *Saguinus oedipus* son monos del nuevo mundo que pertenecen a la familia de *Callitricidae*, mientras que *Saimiri sciureus* es un mono del nuevo mundo que pertenece a la familia de *Cebidae*.

[97] Se prefiere para el constructo de anticuerpo de la presente invención que el segundo dominio de unión que se une a un epítipo extracelular de la cadena CD3 épsilon humano y/o de *Macaca* comprenda una región VL que comprende CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 seleccionadas a partir de:

(a) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 27 de WO 2008/119567, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 28 de WO 2008/119567 y CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 29 de WO 2008/119567;

(b) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 117 de WO 2008/119567, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 118 de WO 2008/119567 y CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 119 de WO 2008/119567; y

(c) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 153 de WO 2008/119567, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 154 de WO 2008/119567 y CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 155 de WO 2008/119567.

[98] En una forma de realización preferida adicional del constructo de anticuerpo de la presente invención, el segundo dominio de unión que se une a un epítipo extracelular de la cadena de CD3 épsilon humano y/o de *Macaca* comprende una región VH que comprende CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 seleccionada a partir de:

(a) CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 12 de WO 2008/119567, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 13 de WO 2008/119567 y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 14 de WO 2008/119567;

(b) CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 30 de WO 2008/119567, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 31 de WO 2008/119567 y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 32 de WO 2008/119567;

(c) CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 48 de WO 2008/119567, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 49 de WO 2008/119567 y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 50 de WO 2008/119567;

(d) CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 66 de WO 2008/119567, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 67 de WO 2008/119567 y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 68 de WO 2008/119567;

(e) CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 84 de WO 2008/119567, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 85 de WO 2008/119567 y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 86 de WO 2008/119567;

(f) CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 102 de WO 2008/119567, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 103 de WO 2008/119567 y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 104 de WO 2008/119567;

(g) CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 120 de WO 2008/119567, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 121 de WO 2008/119567 y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 122 de WO 2008/119567;

(h) CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 138 de WO 2008/119567, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 139 de WO 2008/119567 y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 140 de WO 2008/119567;

(i) CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 156 de WO 2008/119567, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 157 de WO 2008/119567 y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 158 de WO 2008/119567; y

(j) CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 174 de WO 2008/119567, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 175 de WO 2008/119567 y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 176 de WO 2008/119567.

[99] En una forma de realización preferida del constructo de anticuerpo de la invención los tres grupos de CDRs VL antes descriptos están combinados con los diez grupos de CDRs VH antes descriptos dentro del segundo dominio de unión para formar (30) grupos, comprendiendo cada uno CDR-L 1-3 y CDR-H 1-3.

[100] Se prefiere para el constructo de anticuerpo de la presente invención que el segundo dominio de unión el cual se une a CD3, comprenda una región VL seleccionada del grupo que consiste en aquellas descriptas en las SEQ ID NOs: 17, 21, 35, 39, 53, 57, 71, 75, 89, 93, 107, 111, 125, 129, 143, 147, 161, 165, 179 o 183 de WO 2008/119567 o como se describe en SEQ ID NO: 13.

[101] También se prefiere que el segundo dominio que se une a CD3 comprenda una región VH seleccionada a partir del grupo que consiste en aquellas descriptas en SEQ ID NO: 15, 19, 33, 37, 51, 55, 69, 73, 87, 91, 105, 109, 123, 127, 141, 145, 159, 163, 177 o 181 de WO 2008/119567 o como se describe en SEQ ID NO: 14.

[102] Más preferiblemente, el constructo de anticuerpo de la presente invención está caracterizado por un segundo dominio que se une a CD3 que comprende una región VL y una región VH seleccionadas del grupo que consiste en:

- (a) una región VL como se describe en SEQ ID NO: 17 o 21 of WO 2008/119567 y una región VH como se describe en SEQ ID NO: 15 o 19 de WO 2008/119567;
- (b) una región VL como se describe en SEQ ID NO: 35 o 39 de WO 2008/119567 y una región VH como se describe en SEQ ID NO: 33 o 37 de WO 2008/119567;
- (c) una región VL como se describe en SEQ ID NO: 53 o 57 de WO 2008/119567 y una región VH como se describe en SEQ ID NO: 51 o 55 de WO 2008/119567;
- (d) una región VL como se describe en SEQ ID NO: 71 o 75 de WO 2008/119567 y una región VH como se describe en SEQ ID NO: 69 o 73 de WO 2008/119567;
- (e) una región VL como se describe en SEQ ID NO: 89 o 93 de WO 2008/119567 y una región VH como se describe en SEQ ID NO: 87 o 91 de WO 2008/119567;
- (f) una región VL como se describe en SEQ ID NO: 107 o 111 de WO 2008/119567 y una región VH como se describe en SEQ ID NO: 105 o 109 de WO 2008/119567;
- (g) una región VL como se describe en SEQ ID NO: 125 o 129 de WO 2008/119567 y una región VH como se describe en SEQ ID NO: 123 o 127 de WO 2008/119567;
- (h) una región VL como se describe en SEQ ID NO: 143 o 147 de WO 2008/119567 y una región VH como se describe en SEQ ID NO: 141 o 145 de WO 2008/119567;

- (i) una región VL como se describe en SEQ ID NO: 161 o 165 de WO 2008/119567 y una región VH como se describe en SEQ ID NO: 159 o 163 de WO 2008/119567; y
- (j) una región VL como se describe en SEQ ID NO: 179 o 183 de WO 2008/119567 y una región VH como se describe en SEQ ID NO: 177 o 181 de WO 2008/119567.

5 **[103]** También se prefiere en conexión con el constructo de anticuerpo de la presente invención un segundo dominio que se une a CD3 que comprende una región VL como se describe en SEQ ID NO: 13 y una región VH como se describe en SEQ ID NO: 14.

10 **[104]** De acuerdo con una forma de realización preferida del constructo de anticuerpo de la presente invención, el primer y segundo dominio tienen el siguiente formato: Los pares de regiones VH y regiones VL están en el formato de un anticuerpo de cadena simple (scFv). Las regiones VH y VL están dispuestas en el orden VH-VL o VL-VH. Se prefiere que la región VH esté posicionada en el extremo N-terminal de una secuencia enlazadora, y la región VL esté posicionada en el extremo C-terminal de la secuencia enlazadora.

15 **[105]** Una forma de realización preferida del constructo de anticuerpo de la presente invención descrito anteriormente está caracterizada porque el segundo dominio que se une a CD3 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 23, 25, 41, 43, 59, 61, 77, 79, 95, 97, 113, 115, 131, 133, 149, 151, 167, 169, 185 o 187 de WO 2008/119567 o como se describe en SEQ ID NO: 15.

20 **[106]** También se contempla que el primer dominio de unión del constructo de anticuerpo de la invención comprenda una región VL que comprende CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3, y una región VH que comprende CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 seleccionadas a partir del grupo que consiste en:

25 (a) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 45, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 46, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 47, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 42, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 43, y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 44;

30 (b) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 63, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 64, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 65, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 60, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 61, y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 62;

(c) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 81, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 82, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 83, CDR-H1 como se describe en SEQ ID

NO: 78, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 79, y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 80;

(d) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 99, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 100, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 101, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 96, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 97, y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 98;

(e) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 117, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 118, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 119, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 114, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 115, y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 116;

(f) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 135, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 136, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 137, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 132, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 133, y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 134;

(g) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 153, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 154, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 155, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 150, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 151, y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 152;

(h) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 171, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 172, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 173, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 168, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 169, y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 170;

(i) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 189, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 190, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 191, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 186, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 187, y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 188;

(j) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 207, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 208, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 209, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 204, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 205, y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 206;

(k) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 225, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 226, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 227, CDR-H1 como se describe en

SEQ ID NO: 222, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 223, y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 224;

5 (l) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 243, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 244 CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 245, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 240, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 241, y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 242;

10 (m) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 261, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 262 CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 263, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 258, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 259, y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 260;

(n) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 279, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 280 CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 281, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 276, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 277, y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 278;

15 (o) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 297, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 298, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 299, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 294, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 295, y CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 296;

20 (p) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 315, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 316, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 317, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 312, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 313, and CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 314;

25 (q) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 330, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 331, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 332, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 327, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 328, and CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 329;

30 (r) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 345, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 346, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 347, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 342, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 343, and CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 344;

(s) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 360, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 361, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 362, CDR-H1 como se describe en

SEQ ID NO: 357, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 358, and CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 359;

(t) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 375, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 376, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 377, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 372, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 373, and CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 374;

(u) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 390, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 391, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 392, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 387, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 388, and CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 389;

(v) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 405, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 406, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 407, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 402, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 403, and CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 404;

(w) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 420, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 421, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 422, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 417, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 418, and CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 419;

(x) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 435, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 436, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 437, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 432, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 433, and CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 434;

(y) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 450, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 451, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 452, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 447, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 448, and CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 449; y

(z) CDR-L1 como se describe en SEQ ID NO: 465, CDR-L2 como se describe en SEQ ID NO: 466, CDR-L3 como se describe en SEQ ID NO: 467, CDR-H1 como se describe en SEQ ID NO: 462, CDR-H2 como se describe en SEQ ID NO: 463 and CDR-H3 como se describe en SEQ ID NO: 464.

[107] Se contempla adicionalmente que el primer dominio de unión del constructo de anticuerpo de la invención comprenda una región VH y una región VL seleccionadas del grupo que consiste en:

- 5 (a) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 48 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 49;
- (b) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 66 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 67;
- (c) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 72 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 73;
- 10 (d) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 84 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 85;
- (e) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 90 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 91;
- (f) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 102 y una región VL como se describe
15 en SEQ ID NO: 103;
- (g) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 108 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 109;
- (h) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 120 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 121;
- 20 (i) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 126 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 127;
- (j) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 138 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 139;
- (k) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 144 y una región VL como se describe
25 en SEQ ID NO: 145;
- (l) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 156 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 157;
- (m) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 162 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 163;

- (n) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 180 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 181;
- (o) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 192 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 193;
- 5 (p) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 198 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 199;
- (q) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 210 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 211;
- (r) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 216 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 217;
- 10 (s) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 228 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 229;
- (t) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 234 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 235;
- 15 (u) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 246 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 247;
- (v) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 252 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 253;
- (w) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 264 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 265;
- 20 (x) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 270 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 271;
- (y) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 282 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 283;
- 25 (z) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 288 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 289;
- (aa) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 300 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 301;

- (ab) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 306 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 307;
- (ac) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 54 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 55;
- 5 (ad) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 174 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 175;
- (ae) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 318 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 319;
- 10 (af) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 333 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 334;
- (ag) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 348 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 349;
- (ah) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 363 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 364;
- 15 (ai) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 378 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 379;
- (aj) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 393 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 394;
- (ak) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 408 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 409;
- 20 (al) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 423 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 424;
- (am) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 438 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 439;
- 25 (an) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 453 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 454; y
- (ao) una región VH como se describe en SEQ ID NO: 468 y una región VL como se describe en SEQ ID NO: 469.

[108] Se contempla adicionalmente que el primer dominio de unión del constructo de anticuerpo de la invención comprenda una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en aquellas descritas en SEQ ID NOs: 50, 56, 68, 74, 86, 92, 104, 110, 122, 128, 140, 146, 158, 164, 176, 182, 194, 200, 212, 218, 230, 236, 248, 254, 266, 272, 284, 290, 302, 308, 320, 335, 350, 365, 380, 395, 410, 425, 440, 455, y 470.

[109] La invención además provee un constructo de anticuerpo que comprende o que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada a partir del grupo que consiste en SEQ ID NO: 51, 57, 69, 75, 87, 93, 105, 111, 123, 129, 141, 147, 159, 165, 177, 183, 195, 201, 213, 219, 231, 237, 249, 255, 267, 273, 285, 291, 303, 309, 321, 324, 336, 339, 351, 354, 366, 369, 381, 384, 396, 399, 411, 414, 426, 429, 441, 444, 456, 459, 471 y 474.

[110] Las modificaciones covalentes de los constructos de anticuerpo también están incluidas dentro del alcance de esta invención, y se realizan generalmente, pero no siempre, post-traduccionalmente. Por ejemplo, varios tipos de modificaciones covalentes del constructo de anticuerpo son introducidas dentro de la molécula haciendo reaccionar residuos aminoácido específicos del constructo de anticuerpo con un agente derivatizante orgánico que es capaz de reaccionar con cadenas laterales seleccionadas o con los residuos N- o C-terminales.

[111] Los residuos cisteinilo más comúnmente se hacen reaccionar con α -haloacetatos (y las correspondientes aminas), tales como ácido cloroacético o cloroacetamida, para dar derivados carboximetilo o carboxiamidometilo. Los residuos cisteinilo también son derivatizados mediante reacción con bromotrifluoroacetona, ácido α -bromo- β -(5-imidazoil)propiónico, fosfato de cloroacetilo, N-alquilmaleimidias, disulfuro de 3-nitro-2-piridilo, disulfuro de metil 2-piridilo, p-cloromercuriobenzoato, 2-cloromercurio-4-nitrofenol, o cloro-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol.

[112] Los residuos histidilo son derivatizados mediante reacción con dietilpirocarbonato a pH 5,5-7,0 porque este agente es relativamente específico para la cadena lateral de histidilo. También es útil el bromuro de para-bromofenacilo; la reacción es preferiblemente llevada a cabo en cacodilato de sodio 0,1 M a pH 6,0. El lisinilo y los residuos aminotermiales se hacen reaccionar con ácido succínico u otros anhídridos de ácido carboxílico. La derivatización con estos agentes tiene el efecto de revertir el cambio de los residuos lisinilo. Otros reactivos adecuados para derivatizar residuos que contienen alfa-aminos incluyen los imidoésteres tales como picolinimidato de metilo; fosfato de piridoxal; piridoxal; cloroborohidruro; ácido

trinitrobencensulfónico; O-metilisourea; 2,4-pentanodiona; y reacción con glioxilato catalizada por transaminasa.

[113] Los residuos arginilo son modificados mediante reacción con uno o varios reactivos convencionales, entre ellos fenilglioxal, 2,3-butanodiona, 1,2-ciclohexanodiona, y ninhidrina.

5 La derivatización de los residuos de arginina requiere que la reacción sea llevada a cabo en condiciones alcalinas debido al elevado pKa del grupo funcional guanidina. Además, estos reactivos pueden reaccionar con los grupos de lisina así como también con el grupo épsilon-amino de la arginina.

[114] La modificación específica de residuos tirosilo puede realizarse, con particular interés
10 en la introducción de etiquetas espectrales dentro de los residuos tirosilo, mediante reacción con compuestos de diazonio aromáticos o tetranitrometano. Más comúnmente, se utilizan N-acetilimidazol y tetranitrometano para formar especies de O-acetil tirosilo y 3-nitro-derivados, respectivamente. Los residuos tirosilo son iodados utilizando ¹²⁵I o ¹³¹I para preparar proteínas
15 marcadas para el uso en radioinmunoensayo, siendo adecuado el método de la cloramina T anteriormente descrito.

[115] Los grupos carboxilo laterales (aspartilo o glutamilo) son selectivamente modificados mediante reacción con carbodiimidas ($R'-N=C=N-R'$), donde R y R' son opcionalmente
grupos alquilo diferentes, tales como 1-ciclohexil-3-(2-morfolinil-4-etil) carbodiimida o 1-etil-3-(4-azonia-4,4-dimetilpentil) carbodiimida. Además, los residuos aspartilo y glutamilo son
20 convertidos a residuos asparaginilo y glutaminilo mediante reacción con iones amonio.

[116] La derivatización con agentes bifuncionales es útil para entrecruzar los constructos de anticuerpo de la presente invención a una matriz o superficies soportes insolubles en agua,
para el uso en una variedad de métodos. Los agentes de entrecruzamiento comúnmente utilizados incluyen, por ej., 1,1-bis(diazoacetil)-2-feniletano, glutaraldehído, ésteres de N-
25 hidroxisuccinimida, por ejemplo, ésteres con ácido 4-azidosalicílico, imidoésteres homobifuncionales que incluyen ésteres de disuccinimidilo tales como 3,3'-ditiobis(succinimidilpropionato), y maleimidas bifuncionales tales como bis-N-maleimido-1,8-octano. Los agentes derivatizantes tales como metil-3-[(p-azidofenil)ditio]propioimidato rinden
intermediarios fotoactivables que son capaces de formar entrecruzamientos en presencia de
30 luz. Alternativamente, las matrices reactivas insolubles en agua tales como carbohidratos activados con bromuro de cianógeno y los sustratos reactivos descritos en las patentes US 3.969.287; US 3.691.016; US 4.195.128; US 4.247.642; US 4.229.537; y US 4.330.440 se emplean para la inmovilización de proteínas.

[117] Los residuos glutaminilo y asparaginilo son frecuentemente desamidados a los correspondientes residuos glutamilo y aspartilo, respectivamente. Alternativamente, estos residuos son desamidados bajo condiciones ácidas suaves. Cualquier forma de estos residuos cae dentro del alcance de esta invención.

5 **[118]** Otras modificaciones incluyen hidroxilación de prolina y lisina, fosforilación de grupos hidroxilo de residuos serilo o treonilo, metilación de grupos α -amino de cadenas laterales de lisina, arginina, e histidina (T. E. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W. H. Freeman & Co., San Francisco, 1983, pp. 79-86), acetilación de amina N-terminal y amidación de cualquier grupo carboxilo C-terminal.

10 **[119]** Otro tipo de modificación covalente de los constructos de anticuerpo incluido dentro del alcance de esta invención, comprende alterar el esquema de glicosilación de la proteína. Tal como es conocido en el arte, los esquemas de glicosilación pueden depender tanto de la secuencia de la proteína (por ej., la presencia o ausencia de residuos aminoácido de glicosilación particulares, que se discuten a continuación), como de la célula u organismo
15 hospedadora en el cual la proteína es producida. Los sistemas de expresión particulares se discuten a continuación.

[120] La glicosilación de polipéptidos es típicamente N-glicosilación u O-glicosilación. N-glicosilación se refiere a la unión del resto molecular carbohidrato a la cadena lateral de un residuo asparagina. Las secuencias tri-peptídicas asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina, donde X es cualquier aminoácido excepto prolina, son las secuencias de
20 reconocimiento para la unión enzimática del resto molecular carbohidrato a la cadena lateral de asparagina. Así, la presencia de cualquiera de estas secuencias tri-peptídicas en un polipéptido crea un sitio de glicosilación potencial. La O-glicosilación se refiere a la unión de uno de los azúcares N-acetilgalactosamina, galactosa o xilosa, a un hidroxiaminoácido, más
25 comúnmente serina o treonina, aunque también pueden utilizarse 5-hidroxiprolina o 5-hidroxilisina.

[121] La adición de sitios de glicosilación al constructo de anticuerpo es lograda convenientemente alterando la secuencia de aminoácidos de modo que la misma contenga una o más de las secuencias tri-peptídicas descritas anteriormente (para sitios de N-
30 glicosilación). La alteración también puede realizarse mediante adición de, o sustitución por, uno o más residuos serina o treonina en la secuencia de partida (O-glicosilación). Para facilitar, la secuencia de aminoácidos de un constructo de anticuerpo es preferiblemente alterada a través de cambios a nivel de ADN, particularmente mutando el ADN que codifica el polipéptido en bases preseleccionadas de modo que los codones generados se traducirán en
35 los aminoácidos deseados.

[122] Otra forma de incrementar el número de restos moleculares carbohidrato en el constructo de anticuerpo es mediante acoplamiento químico o enzimático de glicósidos a la proteína. Estos procedimientos son ventajosos en tanto no requieren la producción de la proteína en una célula hospedadora que tiene capacidades de N- u O-glicosilación.

5 Dependiendo del modo de acoplamiento utilizado, el/los azúcar/es puede/n estar unido/s a (a) arginina e histidina, (b) grupos carboxilo libres, (c) grupos sulfhidrilo libres tales como aquellos de la cisteína, (d) grupos hidroxilo libres tales como aquellos de la serina, treonina o hidroxiprolina, (e) residuos aromáticos tales como aquellos de fenilalanina, tirosina o triptofano, o (f) el grupo amida de la glutamina. Estos métodos se describen en WO 87/05330,
10 y en Aplin y Wriston, 1981, CRC Crit. Rev. Biochem., pp. 259-306.

[123] La eliminación de restos moleculares carbohidrato presentes en el constructo de anticuerpo de partida puede lograrse químicamente o enzimáticamente. La desglicosilación química requiere la exposición de la proteína al compuesto ácido trifluorometansulfónico, o un compuesto equivalente. Este tratamiento resulta en el clivaje de la mayoría o de todos los
15 azúcares excepto el azúcar enlazador (N-acetilglucosamina o N-acetilgalactosamina), mientras que deja intacto el polipéptido. La desglicosilación química se describe en Hakimuddin *et al.*, 1987, *Arch. Biochem. Biophys.* 259:52 y en Edge *et al.*, 1981, *Anal. Biochem.* 118:131. El clivaje enzimático de restos moleculares carbohidrato sobre los polipéptidos puede lograrse mediante el uso de una variedad de endo- y exo-glicosidasas,
20 como se describen en Thotakura *et al.*, 1987, *Meth. Enzymol.* 138:350. La glicosilación en sitios de glicosilación potenciales puede evitarse mediante el uso del compuesto tunicamicina, como se describe en Duskin *et al.*, 1982, *J. Biol. Chem.* 257:3105. La tunicamicina bloquea la formación de enlaces N-glicósido en proteínas.

[124] Otras modificaciones del constructo de anticuerpo también están contempladas en la presente. Por ejemplo, otro tipo de modificación covalente del constructo de anticuerpo
25 comprende la unión del constructo de anticuerpo a diversos polímeros no proteicos, incluyendo, pero sin limitarse a, diversos polioles tales como polietilenglicol, polipropilenglicol, polioxialquilenos, o copolímeros de polietilenglicol y polipropilenglicol, de la forma establecida en las patentes US 4.640.835; US 4.496.689; US 4.301.144; US 4.670.417; US 4.791.192 o
30 US 4.179.337. Además, como se conoce en el arte, las sustituciones de aminoácidos pueden realizarse en diversas posiciones dentro del constructo de anticuerpo, por ej., para facilitar la adición de polímeros tales como PEG.

[125] En algunas formas de realización, la modificación covalente de los constructos de anticuerpo de la invención comprende la adición de una o más etiquetas. El grupo marcador
35 puede ser acoplado al constructo de anticuerpo mediante brazos espaciadores de diversas

longitudes para reducir el impedimento estérico potencial. Se conocen en el arte diversos métodos para marcar proteínas y se pueden utilizar para llevar a cabo la presente invención. Las expresiones “etiqueta” o “grupo marcador” se refieren a cualquier etiqueta detectable. En general, las etiquetas caen dentro de una variedad de clases, dependiendo del ensayo en el cual serán detectadas – los siguientes ejemplos incluyen, pero no se limitan a:

- a) etiquetas isotópicas, las cuales pueden ser isótopos radioactivos o pesados, tales como radioisótopos o radionúclidos (por ej., ^3H , ^{14}C , ^{15}N , ^{35}S , ^{89}Zr , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{125}I , ^{131}I)
- b) marcas etiquetas (por ej., partículas magnéticas)
- c) grupos moleculares redox activos
- d) colorantes ópticos (que incluyen, pero no se limitan a, cromóforos, fósforos y fluoróforos) tales como grupos fluorescentes (por ej., FITC, rodamina, fosforos de lantánidos), grupos quimioluminiscentes y fluoróforos los cuales pueden ser o bien fluoros de “molécula pequeña” o fluoros proteicos
- e) grupos enzimáticos (por ej., peroxidasa de rábano picante, β -galactosidasa, luciferasa, fosfatasa alcalina)
- f) grupos biotinilados
- g) epítopes polipeptídicos predeterminados reconocidos por un reportero secundario (por ej., secuencias de pares de cierre (*zipper*) de leucina, sitios de unión para anticuerpos secundarios, dominios de unión a metales, etiquetas de epítope, etc.)

[126] Se entiende por “etiqueta fluorescente” cualquier molécula que pueda ser detectada mediante sus propiedades fluorescentes inherentes. Las etiquetas fluorescentes adecuadas incluyen, pero no se limitan a, fluoresceína, rodamina, tetrametilrodamina, eosina, eritrosina, cumarina, metil-cumarinas, pireno, verde Malaquita, estilbeno, Amarillo Lucifer, Cascade BlueJ, Rojo Texas, IAEDANS, EDANS, BODIPY FL, Rojo LC 640, Cy 5, Cy 5.5, Rojo LC 705, verde Oregon, los colorantes Alexa-Fluor (Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 430, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 633, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680), Azul Cascade, Amarillo Cascade y R-ficoeritrina (PE) (Molecular Probes, Eugene, OR), FITC, Rodamina y Rojo Texas (Pierce, Rockford, IL), Cy5, Cy5.5, Cy7 (Amersham Life Science, Pittsburgh, PA). Los colorantes ópticos adecuados, que incluyen los fluoróforos, están descritos en *Molecular Probes Handbook* de Richard P. Haugland.

[127] Las etiquetas fluorescentes proteicas adecuadas también incluyen, pero no se limitan a, proteína verde fluorescente, incluyendo GFP de las especies *Renilla*, *Ptilosarcus*, o *Aequorea* (Chalfie *et al.*, 1994, *Science* 263:802-805), EGFP (Clontech Laboratories, Inc., Número de Acceso al Genbank U55762), proteína azul fluorescente (BFP, Quantum Biotechnologies, Inc. 1801 de Maisonneuve Blvd. West, 8vo Piso, Montreal, Quebec, Canada H3H 1J9; Stauber, 1998, *Biotechniques* 24:462-471; Heim *et al.*, 1996, *Curr. Biol.* 6:178-182),

proteína amarilla fluorescente mejorada (EYFP, Clontech Laboratories, Inc.), luciferasa (Ichiki *et al.*, 1993, *J. Immunol.* 150:5408-5417), β galactosidasa (Nolan *et al.*, 1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:2603-2607) y Renilla (WO92/15673, WO95/07463, WO98/14605, WO98/26277, WO99/49019, patentes US 5.292.658; US 5.418.155; US 5.683.888; US 5.741.668; US 5.777.079; US 5.804.387; US 5.874.304; US 5.876.995; US 5.925.558).

[128] El constructo de anticuerpo de la invención también puede comprender dominios adicionales, los cuales son, por ej., útiles en el aislamiento de la molécula o se relacionan con un perfil farmacocinético adaptado de la molécula. Los dominios útiles para el aislamiento de un constructo de anticuerpo pueden seleccionarse a partir de motivos peptídicos o restos moleculares introducidos secundariamente, los cuales pueden ser capturados en un método de aislamiento, por ej., una columna de aislamiento. Las formas de realización no limitantes de dichos dominios adicionales comprenden motivos peptídicos conocidos como etiqueta Myc, etiqueta HAT, etiqueta HA, etiqueta TAP-tag, etiqueta GST, dominio de unión a quitina (etiqueta CBD, por sus siglas en inglés), proteína de unión a maltosa (etiqueta MBP, por sus siglas en inglés), etiqueta Flag, etiqueta Strep y variantes de la misma (por ej., etiqueta StrepII) y etiqueta His. Todos los constructos de anticuerpo divulgados en la presente pueden comprender un dominio con etiqueta His, el cual es generalmente conocido como una repetición de residuos His consecutivos en la secuencia de aminoácidos de una molécula, preferiblemente de cinco, y más preferiblemente de seis residuos His (hexa-histidina). La etiqueta His puede estar ubicada por ej., en el extremo N- o C-terminal del constructo de anticuerpo, preferiblemente está ubicada en el extremo C-terminal. Más preferiblemente, una etiqueta hexa-histidina (HHHHHH) (SEQ ID NO:16) está unida mediante enlace peptídico al extremo C-terminal del constructo de anticuerpo de acuerdo con la invención. Adicionalmente, se puede combinar un sistema conjugado de PLGA-PEG-PLGA con una etiqueta polihistidina para aplicación de liberación sostenida y perfil farmacocinético mejorado.

[129] Las modificaciones de la secuencia de aminoácidos de los constructos de anticuerpo descritos en la presente también están contempladas. Por ejemplo, puede ser deseable mejorar la afinidad de unión y/u otras propiedades biológicas del constructo de anticuerpo. Las variantes de la secuencia de aminoácidos de los constructos de anticuerpo se preparan introduciendo cambios nucleotídicos apropiados dentro del ácido nucleico de los constructos de anticuerpo, o mediante síntesis de péptidos. Todas las modificaciones de la secuencia de aminoácidos descritas a continuación deberán resultar en un constructo de anticuerpo que aún retiene la actividad biológica deseada (unión a PSMA y a CD3) de la molécula parental no modificada.

[130] La expresión “aminoácido” o “residuo aminoácido” típicamente se refiere a un aminoácido que tiene su definición, reconocida en el arte, tal como un aminoácido seleccionado a partir del grupo que consiste en: alanina (Ala o A); arginina (Arg o R); asparagina (Asn o N); ácido aspártico (Asp o D); cisteína (Cys o C); glutamina (Gln o Q); ácido glutámico (Glu o E); glicina (Gly o G); histidina (His o H); isoleucina (Ile o I); leucina (Leu o L); lisina (Lys o K); metionina (Met o M); fenilalanina (Phe o F); prolina (Pro o P); serina (Ser o S); treonina (Thr o T); triptofano (Trp o W); tirosina (Tyr o Y); y valina (Val o V), aunque también pueden utilizarse aminoácidos modificados, sintéticos o raros, como se desee. Generalmente, los aminoácidos pueden agruparse según tengan una cadena lateral no polar (por ej., Ala, Cys, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Val); una cadena lateral cargada negativamente (por ej., Asp, Glu); una cadena lateral cargada positivamente (por ej., Arg, His, Lys); o una cadena lateral polar no cargada (por ej., Asn, Cys, Gln, Gly, His, Met, Phe, Ser, Thr, Trp, y Tyr).

[131] Las modificaciones de aminoácidos incluyen, por ejemplo, deleciones, y/o inserciones, y/o sustituciones, de residuos dentro de las secuencias de aminoácidos de los constructos de anticuerpo. Cualquier combinación de deleción, inserción y sustitución se realiza para llegar al constructo final, siempre que el constructo final posea las características deseadas. Los cambios de aminoácidos también pueden alterar los procesos post-traduccionales de los constructos de anticuerpo, tales como cambiar el número o posición de los sitios de glicosilación.

[132] Por ejemplo, pueden insertarse, sustituirse o deleccionarse 1, 2, 3, 4, 5, o 6 aminoácidos en cada uno de las CDRs (desde luego, dependiendo de su longitud), mientras que pueden insertarse, sustituirse o deleccionarse 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, o 25 aminoácidos en cada una de las FRs. Preferiblemente, las inserciones en la secuencia de aminoácidos dentro del constructo de anticuerpo incluyen fusiones amino- y/o carboxilo-terminales en el rango de longitud de desde 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 residuos a polipéptidos que contienen cien o más residuos, así como también inserciones intra-secuencia de residuos aminoácido únicos o múltiples. También pueden llevarse a cabo modificaciones correspondientes dentro del tercer dominio del constructo de anticuerpo de la invención. Una variante insercional del constructo de anticuerpo de la invención incluye la fusión de una enzima al extremo N-terminal o al extremo C-terminal del constructo de anticuerpo, o la fusión a un polipéptido.

[133] Los sitios de mayor interés para la mutagénesis sustitucional incluyen (pero no están limitados a) las CDRs de la cadena pesada y/o de la liviana, en particular las regiones hipervariables, pero también están contempladas las alteraciones de FR en la cadena pesada y/o en la liviana. Las sustituciones son preferiblemente sustituciones conservativas como se

describe en la presente. Preferiblemente, se pueden sustituir 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10 aminoácidos en una CDR, mientras que se pueden sustituir 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, o 25 aminoácidos en las regiones de estructura (FRs), dependiendo de la longitud de la CDR o de la FR. Por ejemplo, si una secuencia de CDR abarca 6 aminoácidos, está contemplado que uno, dos o tres de estos aminoácidos sean sustituidos. De manera similar, si una secuencia de CDR abarca 15 aminoácidos está contemplado que uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis de estos aminoácidos sean sustituidos.

[134] Un método útil para la identificación de ciertos residuos o regiones de los constructos de anticuerpo que son ubicaciones preferidas para la mutagénesis, se denomina “mutagénesis por mapeo de alaninas” como se describe en Cunningham y Wells en Science, 244: 1081-1085 (1989). Aquí, un residuo o un grupo de residuos diana dentro del constructo de anticuerpo es/son identificado/s (por ej., residuos cargados tales como arg, asp, his, lys, y glu) y reemplazados por un aminoácido neutro o cargado negativamente (más preferiblemente alanina o polialanina) para afectar la interacción de los aminoácidos con el epítipo.

[135] Aquellas ubicaciones de aminoácidos que demuestran sensibilidad funcional a las sustituciones son entonces refinadas introduciendo variantes adicionales o distintas en, o para, los sitios de sustitución. Así, mientras el sitio, o la región, para introducir una variación en la secuencia de aminoácidos está predeterminado, la naturaleza de la mutación *per se* no necesita estar predeterminada. Por ejemplo, para analizar u optimizar el desempeño de una mutación en un sitio dado, el mapeo de alaninas o la mutagénesis al azar, pueden llevarse a cabo en un codón o región diana, y las variantes del constructo de anticuerpo expresadas son relevadas en cuanto a la combinación óptima de actividad deseada. Las técnicas para realizar mutaciones por sustitución en sitios predeterminados de ADN que tiene una secuencia conocida, son bien conocidas, por ejemplo, mutagénesis con cebador M13 y mutagénesis por PCR. El relevamiento de las mutantes se efectúa utilizando ensayos de actividades de unión a antígeno, tales como unión a PSMA o a CD3.

[136] Generalmente, si los aminoácidos son sustituidos en una o más o en todas los CDRs de la cadena pesada y/o la liviana, se prefiere que la secuencia “sustituida” así obtenida sea al menos 60% o 65%, más preferiblemente 70% o 75%, incluso más preferiblemente 80% o 85%, y particularmente preferiblemente 90% o 95% idéntica a la secuencia de la CDR “original”. Esto significa que es dependiente de la longitud de la CDR al grado en que es idéntica a la secuencia “sustituida”. Por ejemplo, una CDR que tiene 5 aminoácidos es preferiblemente 80% idéntica a su secuencia sustituida a fin de tener al menos un aminoácido sustituido. Concordantemente, las CDRs del constructo de anticuerpo pueden tener diferentes

grados de identidad con sus secuencias sustituidas, por ej., la CDRL1 puede tener 80%, mientras que la CDRL3 puede tener 90%.

[137] Las sustituciones preferidas (o reemplazos) son sustituciones conservativas. No obstante, está contemplada cualquier sustitución (incluyendo la sustitución no conservativa o una o más de las “sustituciones de ejemplo” listadas en la Tabla 3, a continuación) en tanto que el constructo de anticuerpo retenga su capacidad de unión a PSMA mediante el primer dominio y a CD3 épsilon mediante el segundo dominio y/o sus CDRs tengan una identidad a la secuencia luego sustituida (al menos 60% o 65%, más preferiblemente 70% o 75%, incluso más preferiblemente 80% o 85%, y particularmente preferiblemente 90% o 95% idéntica a la secuencia “original” de la CDR).

[138] Las sustituciones conservativas se muestran en la Tabla 3 bajo el encabezado de “sustituciones preferidas”. Si dichas sustituciones resultan en un cambio en la actividad biológica, entonces se pueden introducir más cambios sustanciales, denominados “sustituciones a modo de ejemplo” en la Tabla 3, o como se describe adicionalmente a continuación en referencia a las clases de aminoácidos, y los productos pueden ser relevados en cuanto a una característica deseada.

Tabla 3: Sustituciones de aminoácidos

Original	Sustituciones a modo de ejemplo	Sustituciones preferidas
Ala (A)	val, leu, ile	val
Arg (R)	lys, gln, asn	lys
Asn (N)	gln, his, asp, lys, arg	gln
Asp (D)	glu, asn	glu
Cys (C)	ser, ala	ser
Gln (Q)	asn, glu	asn
Glu (E)	asp, gln	asp
Gly (G)	ala	ala
His (H)	asn, gln, lys, arg	arg
Ile (I)	leu, val, met, ala, phe	leu
Leu (L)	norleucine, ile, val, met, ala	ile
Lys (K)	arg, gln, asn	arg
Met (M)	leu, phe, ile	leu
Phe (F)	leu, val, ile, ala, tyr	tyr
Pro (P)	ala	ala

Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	ter	ser
Trp (W)	tyr, phe	tyr
Tyr (Y)	trp, phe, thr, ser	phe
Val (V)	ile, leu, met, phe, ala	leu

[139] Las modificaciones sustanciales en las propiedades biológicas del constructo de anticuerpo de la presente invención se logran mediante selección de sustituciones que difieren significativamente en su efecto de mantener (a) la estructura del esqueleto del polipéptido en el área de la sustitución, por ejemplo, como una conformación de lámina o helicoidal, (b) la carga o hidrofobicidad de la molécula en el sitio diana, o (c) el volumen de la cadena lateral. Los residuos naturales están divididos en grupos en base a las propiedades en común de las cadenas laterales: (1) hidrófobos: norleucina, met, ala, val, leu, ile; (2) hidrófilos neutros: cys, ser, thr; asn, gln (3) ácidos: asp, glu; (4) básicos: his, lys, arg; (5) residuos que influyen la orientación de la cadena: gly, pro; y (6) aromáticos: trp, tyr, phe.

[140] Las sustituciones no conservativas implicarán intercambiar un miembro de una de estas clases por uno de otra clase. Cualquier residuo cisteína no involucrado en mantener la conformación apropiada del constructo de anticuerpo puede ser sustituido, generalmente con serina, para mejorar la estabilidad oxidativa de la molécula y evitar entrecruzamiento aberrante. De manera inversa, el/los enlace/s de cisteína puede/n agregarse al anticuerpo para mejorar su estabilidad (particularmente cuando el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo tal como un fragmento Fv).

[141] Para las secuencias de aminoácidos, la identidad y/o similitud de secuencia es determinada utilizando técnicas estándar conocidas en el arte, que incluyen, pero no se limitan a, el algoritmo de identidad de secuencia local de Smith y Waterman, 1981, *Adv. Appl. Math.* 2:482, el algoritmo de alineamiento de identidad de secuencia de Needleman y Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48:443, el método de búsqueda de similitud de Pearson y Lipman, 1988, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 85:2444, implementaciones computarizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA, y TFASTA en el Paquete de Programas Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.), el programa de secuencias Best Fit descrito por Devereux *et al.*, 1984, *Nucl. Acid Res.* 12:387-395, preferiblemente utilizando las configuraciones por defecto, o mediante inspección. Preferiblemente, la identidad porcentual es calculada mediante FastDB en base a los siguientes parámetros: penalidad por error de apareamiento de 1; penalidad por espacio (*gap*) de 1; penalidad por tamaño de *gap* de 0,33; y penalidad por unión de 30, "Current Methods in Sequence Comparison and

Analysis," Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications, pp 127-149 (1988), Alan R. Liss, Inc.

[142] Un ejemplo de un algoritmo útil es PILEUP. PILEUP crea un alineamiento múltiple de secuencias a partir de un grupo de secuencias relacionadas, utilizando alineamientos progresivos, de a pares. También puede graficar un árbol que muestra las relaciones del conglomerado utilizadas para crear el alineamiento. PILEUP utiliza una simplificación del método de alineamiento progresivo de Feng & Doolittle, 1987, *J. Mol. Evol.* 35:351-360; el método es similar a aquél descrito por Higgins y Sharp, 1989, *CABIOS* 5:151-153. Los parámetros útiles de PILEUP que incluyen un peso de *gap* por defecto de 3,00, un peso de longitud de *gap* por defecto de 0,10, y *gaps* de extremo pesados.

[143] Otro ejemplo de algoritmo útil es el algoritmo BLAST, descrito en: Altschul *et al.*, 1990, *J. Mol. Biol.* 215:403-410; Altschul *et al.*, 1997, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402; y Karin *et al.*, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:5873-5787. Un programa BLAST particularmente útil es el programa WU-BLAST-2 el cual fue obtenido de Altschul *et al.*, 1996, *Methods in Enzymology* 266:460-480. WU-BLAST-2 utiliza varios parámetros de búsqueda, la mayoría de los cuales están configurados a los valores por defecto. Los parámetros ajustables están configurados con los siguientes valores: longitud de solapamiento=1, fracción de solapamiento=0,125, umbral de palabra (T)=11. Los parámetros HSP S y HSP S2 son valores dinámicos y están establecidos por el programa mismo, dependiendo de la composición de la secuencia particular y la composición de la base de datos particular contra la cual se busca la secuencia de interés; no obstante, los valores pueden ajustarse para incrementar la sensibilidad.

[144] Un algoritmo útil adicional es BLAST con huecos (*gapped* BLAST) tal como reportado por Altschul *et al.*, 1993, *Nucl. Acids Res.* 25:3389-3402. El *gapped* BLAST utiliza puntajes de sustitución BLOSUM-62; el parámetro de umbral T configurado en 9; el método de dos aciertos para apuntar a las extensiones sin gaps, carga un costo de 10+k a las longitudes de gap de k; Xu está configurado en 16, y Xg está configurado en 40 para la etapa de búsqueda en base de datos y en 67 para la etapa de resultados de los algoritmos. Los alineamientos con huecos (*gapped*) son disparados por un puntaje correspondiente a aproximadamente 22 bits.

[145] Generalmente, la homología, similitud o identidad de secuencia de aminoácidos entre CDRs o secuencias VH/VL variantes individuales es al menos 60% con las secuencias mostradas en la presente, y más típicamente con homologías o identidades preferiblemente crecientes de al menos 65% o 70%, más preferiblemente al menos 75% u 80%, incluso más preferiblemente al menos 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, y casi 100%. De una manera similar, la "identidad de secuencia de ácido nucleico porcentual

(%)” con respecto a la secuencia de ácido nucleico de las proteínas de unión identificadas en la presente está definida como el porcentaje de residuos nucleotídicos en una secuencia candidata que son idénticos a los residuos nucleotídicos en la secuencia codificante del constructo de anticuerpo. Un método específico utiliza el módulo BLASTN de WU-BLAST-2 configurado a los parámetros por defecto, con longitud de solapamiento y fracción de solapamiento configurados a 1 y 0,125, respectivamente.

[146] Generalmente, la homología, similitud o identidad de secuencia de ácido nucleico entre secuencias nucleotídicas que codifican CDRs o secuencias VH/VL variantes individuales y las secuencias nucleotídicas mostradas en la presente es al menos 60%, y más típicamente con homologías o identidades preferiblemente crecientes de al menos 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99%, y casi 100%. Así, una “CDR variante” o una “variante de región VH/VL” es una con la homología, similitud o identidad especificada con la CDR/VH/VL parental de la invención, y comparte la función biológica, incluyendo, pero no limitado a, al menos 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% de la especificidad y/o actividad de la CDR o VH/VL parental.

[147] En una forma de realización, el porcentaje de identidad con la línea germinal humana de los constructos de anticuerpo de acuerdo con la invención es $\geq 70\%$ o $\geq 75\%$, más preferiblemente $\geq 80\%$ o $\geq 85\%$, incluso más preferiblemente $\geq 90\%$, y lo más preferible $\geq 91\%$, $\geq 92\%$, $\geq 93\%$, $\geq 94\%$, $\geq 95\%$ o incluso $\geq 96\%$. La identidad con los productos génicos de la línea germinal de anticuerpos humanos se considera una característica importante para reducir el riesgo de que proteínas terapéuticas generen una respuesta inmune contra la droga en un paciente durante el tratamiento. Hwang & Foote (“*Immunogenicity of engineered antibodies*”; *Methods* 36 (2005) 3-10) demuestran que la reducción de proteínas no humanas de drogas de constructos de anticuerpo, conduce a una disminución del riesgo de inducir anticuerpos anti-droga en los pacientes durante el tratamiento. Comparando un número exhaustivo de drogas de anticuerpo evaluadas clínicamente y los respectivos datos de inmunogenicidad, la tendencia muestra que la humanización de las regiones V de los anticuerpos hace a la proteína menos inmunogénica (promedio 5,1 % de los pacientes) que los anticuerpos que portan regiones V no humanas inalteradas (promedio 23,59 % de los pacientes). Por lo tanto, se desea un grado más alto de identidad con las secuencias humanas para agentes terapéuticos de proteína basados en la región V, en la forma de constructos de anticuerpo. Con el propósito de determinar la identidad con la línea germinal, las regiones V de VL pueden ser alineadas con las secuencias de aminoácidos de los segmentos V y de los segmentos J de la línea germinal humana (<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>) utilizando el

programa Vector NTI y se puede calcular la secuencia de aminoácidos dividiendo los residuos aminoácido idénticos por el número total de residuos aminoácido del VL en porcentaje. Lo mismo puede hacerse para los segmentos VH (<http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>) con la excepción de que la CDR3 de VH puede ser excluida debido a su elevada diversidad y a la falta de existencia de compañeros de alineamiento de CDR3 de VH de la línea germinal humana. Las técnicas recombinantes pueden luego utilizarse para incrementar la identidad de secuencia con los genes de anticuerpo de la línea germinal humana.

[148] En una forma de realización adicional, los constructos de anticuerpo biespecíficos de la presente invención exhiben elevados rendimientos de monómero bajo condiciones estándar de escala de investigación, por ej., en un proceso de purificación estándar en dos etapas. Preferiblemente el rendimiento de monómero de los constructos de anticuerpo de acuerdo con la invención es $\geq 0,25$ mg/L de sobrenadante, más preferiblemente $\geq 0,5$ mg/L, incluso más preferiblemente ≥ 1 mg/L, y lo más preferible ≥ 3 mg/L de sobrenadante.

[149] Del mismo modo, puede determinarse el rendimiento de las isoformas diméricas del constructo de anticuerpo, y por lo tanto, el porcentaje de monómero (*es decir*, monómero:(monómero+dímero)) de los constructos de anticuerpo. La productividad de los constructos de anticuerpo monoméricos y diméricos y el porcentaje de monómero calculado pueden obtenerse, por ej., en la etapa de purificación SEC del sobrenadante de cultivo a partir de la producción estandarizada a escala investigación en botellas rotatorias. En una forma de realización, el porcentaje de monómero de los constructos de anticuerpo es $\geq 80\%$, más preferiblemente $\geq 85\%$, incluso más preferiblemente $\geq 90\%$, y lo más preferible $\geq 95\%$.

[150] En una forma de realización, los constructos de anticuerpo tienen una estabilidad en plasma preferida (relación de EC_{50} con plasma a EC_{50} sin plasma) de ≤ 5 o ≤ 4 , más preferiblemente $\leq 3,5$ o ≤ 3 , incluso más preferiblemente $\leq 2,5$ o ≤ 2 , y lo más preferible $\leq 1,5$ o ≤ 1 . La estabilidad en plasma de un constructo de anticuerpo puede evaluarse mediante incubación del constructo en plasma humano a 37°C durante 24 horas seguido de determinación de la EC_{50} en un ensayo de citotoxicidad con liberación de ^{51}Cr romo. Las células efectoras en el ensayo de citotoxicidad pueden ser células T CD8 positivas humanas enriquecidas estimuladas. Las células diana pueden ser, por ej., células CHO transfectadas con PSMA humano. La relación de células efectoras a dianas (E:T) puede elegirse como 10:1. El conjunto combinado de plasma humano utilizado para este propósito es derivado de la sangre de donantes sanos recolectada mediante jeringas recubiertas con EDTA. Los componentes celulares son eliminados mediante centrifugación y la fase superior de plasma es recolectada y posteriormente combinada. Como control, los constructos de anticuerpo son diluidos inmediatamente antes del ensayo de citotoxicidad en medio RPMI-1640. La

estabilidad en plasma se calcula como la relación de EC_{50} (luego de la incubación con plasma) a EC_{50} (del control).

[151] Se prefiere adicionalmente que la conversión de monómero a dímero de los constructos de anticuerpo de la invención sea baja. La conversión puede medirse bajo diferentes condiciones y analizarse mediante cromatografía de alto desempeño de exclusión por tamaño. Por ejemplo, se puede llevar a cabo la incubación de las isoformas monoméricas de los constructos de anticuerpo durante 7 días a 37°C y a concentraciones de por ej., 100 µg/ml o 250 µg/ml en una incubadora. Bajo estas condiciones, se prefiere que los constructos de anticuerpo de la invención muestren un porcentaje de dímero que sea ≤5%, más preferiblemente ≤4%, incluso más preferiblemente ≤3%, incluso más preferiblemente ≤2,5%, incluso más preferiblemente ≤2%, incluso más preferiblemente ≤1,5%, y lo más preferible ≤1% o ≤0,5%, o incluso 0%.

[152] También se prefiere que los constructos de anticuerpo biespecíficos de la presente invención tengan una muy baja conversión a dímero luego de una cantidad de ciclos de congelamiento/descongelamiento. Por ejemplo, el monómero de constructo de anticuerpo se ajusta a una concentración de 250 µg/ml por ej., en un buffer de formulación genérico y sometido a tres ciclos de congelamiento/descongelamiento (congelamiento a -80°C durante 30 min seguido de descongelamiento durante 30 min a temperatura ambiente), seguido de SEC de alto desempeño para determinar el porcentaje de constructo de anticuerpo inicialmente monomérico, que haya sido convertido en constructo de anticuerpo dimérico. Preferiblemente, los porcentajes de dímero de los constructos de anticuerpo biespecíficos son ≤5%, más preferiblemente ≤4%, incluso más preferiblemente ≤3%, incluso más preferiblemente ≤2,5%, incluso más preferiblemente ≤2%, incluso más preferiblemente ≤1,5%, y lo más preferible ≤1% o incluso ≤0,5%, por ejemplo luego de tres ciclos de congelamiento/descongelamiento.

[153] Los constructos de anticuerpo biespecíficos de la presente invención preferiblemente muestran una termoestabilidad favorable con temperaturas de agregación $\geq 45^{\circ}\text{C}$ o $\geq 50^{\circ}\text{C}$, más preferiblemente $\geq 52^{\circ}\text{C}$ o $\geq 54^{\circ}\text{C}$, incluso más preferiblemente $\geq 56^{\circ}\text{C}$ o $\geq 57^{\circ}\text{C}$, y lo más preferible $\geq 58^{\circ}\text{C}$ o $\geq 59^{\circ}\text{C}$. El parámetro de termoestabilidad se puede determinar en términos de temperatura de agregación del anticuerpo como sigue: una solución de anticuerpo a una concentración de 250 µg/ml se transfiere a una cubeta de uso único y se coloca en un dispositivo de Dispersión Dinámica de Luz (DLS, por sus siglas en inglés). La muestra se calienta de 40°C a 70°C a una velocidad de calentamiento de 0,5°C/min con adquisición constante del radio medido. El incremento del radio que indica la fusión de la proteína y la agregación, es utilizado para calcular la temperatura de agregación del anticuerpo.

- [154]** Alternativamente, las curvas de temperatura de fusión pueden determinarse mediante Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC, por sus siglas en inglés) para determinar estabildades biofísicas intrínsecas de la proteína de los constructos de anticuerpo. Estos experimentos son llevados a cabo utilizando un dispositivo VP-DSC de MicroCal LLC (Northampton, MA, EE.UU.). La absorción de energía de una muestra que contiene un constructo de anticuerpo se registra de 20°C a 90°C en comparación con una muestra que solamente contiene el buffer para formulación. Los constructos de anticuerpo se ajustan a una concentración final de 250 µg/ml por ej., en buffer de corrida SEC. Para el registro de la respectiva curva de fusión, la temperatura global de la muestra es incrementada escalonadamente. A cada temperatura T, se registra la absorción de energía de la muestra y de la referencia buffer de formulación. La diferencia en absorción de energía Cp (kcal/mol/°C) de la muestra menos la referencia se grafica en función de la temperatura respectiva. La temperatura de fusión se define como la temperatura en el primer máximo de absorción de energía.
- [155]** También se contempla que los constructos de anticuerpo biespecíficos PSMAxCD3 de la invención tengan una turbidez (medida mediante OD340 luego de la concentración del constructo de anticuerpo monomérico purificado a 2,5 mg/ml e incubación durante la noche) de $\leq 0,2$, preferiblemente de $\leq 0,15$, más preferiblemente de $\leq 0,12$, incluso más preferiblemente de $\leq 0,1$, y más preferiblemente de $\leq 0,08$.
- [156]** En una realización adicional el constructo de anticuerpo de acuerdo con la invención es estable a pH fisiológico o ligeramente inferior, es decir pH de aproximadamente 7,4 a 6,0. Cuanto más tolerante se comporta el constructo de anticuerpo a pH no fisiológico tal como pH de aproximadamente 6,0, mayor es la recuperación del constructo de anticuerpo eluido de una columna de intercambio iónico en relación con la cantidad total de proteína cargada. La recuperación del constructo de anticuerpo a partir de una columna de intercambio iónico (por ej., catiónico) a pH de aproximadamente 6,0 es preferiblemente $\geq 30\%$, más preferiblemente $\geq 40\%$, más preferiblemente $\geq 50\%$, incluso más preferiblemente $\geq 60\%$, incluso más preferiblemente $\geq 70\%$, incluso más preferiblemente $\geq 80\%$, incluso más preferiblemente $\geq 90\%$, incluso más preferiblemente $\geq 95\%$, y lo más preferido $\geq 99\%$.
- [157]** También está concebido que los constructos de anticuerpo biespecíficos de la presente invención exhiban una eficacia terapéutica o actividad anti-tumoral. Esto se puede evaluar, por ej., en un estudio como el divulgado en el siguiente ejemplo de un modelo de xenoimplante de tumor humano de estadio avanzado:
- [158]** En el día 1 del estudio, se inyectan subcutáneamente 5×10^6 células positivas para antígeno celular diana (aquí PSMA) de una línea celular de cáncer humano en el flanco dorsal

derecho de ratones hembra NOD/SCID. Cuando el volumen medio del tumor alcanza aproximadamente los 100 mm³, las células T humanas CD3 positivas expandidas *in vitro* son trasplantadas dentro de los ratones mediante inyección de aproximadamente 2x10⁷ células dentro de la cavidad peritoneal de los animales. Los ratones del grupo 1 de control de vehículo no reciben células efectoras y son utilizados como un control no trasplantado para comparación con un grupo 2 de control de vehículo (que recibe células efectoras) para monitorear el impacto de las células T solas sobre el crecimiento del tumor. El tratamiento con anticuerpo comienza cuando el volumen medio del tumor alcanza aproximadamente los 200 mm³. El tamaño medio del tumor de cada grupo tratamiento en el día del comienzo del tratamiento no debería ser estadísticamente diferente de cualquier otro grupo (análisis de varianza). Los ratones son tratados con 0,5 mg/kg/día de un constructo de anticuerpo biespecífico PSMAxCD3 mediante inyección intravenosa en bolo durante aproximadamente 15 a 20 días. Los tumores son medidos mediante calibre durante el estudio y el progreso es evaluado mediante comparación intergrupos de los volúmenes de tumor (TV, por sus siglas en inglés). La inhibición del crecimiento tumoral T/C [%] es determinada calculando TV como T/C% = 100 x (TV mediana del grupo analizado) / (TV mediana del grupo control 2).

[159] La persona experta sabe cómo modificar o adaptar ciertos parámetros de este estudio, tales como el número de células tumorales inyectadas, el sitio de inyección, el número de células T transplantadas, la cantidad de constructos de anticuerpo biespecíficos a ser administrada, y las líneas de tiempo, todavía arribando a un resultado significativo y reproducible. Preferiblemente, la inhibición del crecimiento del tumor T/C [%] es ≤ 70 o ≤ 60, más preferiblemente ≤ 50 o ≤ 40, incluso más preferiblemente ≤ 30 o ≤ 20 y lo más preferible ≤ 10 o ≤ 5 o incluso ≤ 2,5.

[160] En una forma de realización preferida del constructo de anticuerpo de la invención el constructo de anticuerpo es un constructo de anticuerpo de cadena simple.

[161] También en una forma de realización preferida del constructo de anticuerpo de la invención dicho tercer dominio comprende en el orden amino a carboxilo:

bisagra-CH2-CH3-enlazador-bisagra-CH2-CH3.

[162] En una forma de realización de la invención cada uno de dichos monómeros polipeptídicos del tercer dominio tiene una secuencia de aminoácidos que es al menos 90% idéntica a una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 17-24. En una forma de realización preferida de la invención cada uno de dichos monómeros polipeptídicos tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 17-24.

- [163]** También en una forma de realización de la invención el dominio CH2 de uno o preferiblemente cada uno (ambos) monómeros polipeptídicos del tercer dominio comprende un puente disulfuro de cisteínas *intra* dominio. Como es conocido en el arte, la expresión “puente disulfuro de cisteínas” se refiere a un grupo funcional con la estructura general *R-S-S-R*. El enlace es también llamado enlace SS o un puente disulfuro y está derivado del acoplamiento de dos grupo tiol de residuos cisteína. Es particularmente preferido para el constructo de anticuerpo de la invención que las cisteínas que forman el puente disulfuro de cisteínas en el constructo de anticuerpo maduro sean introducidas dentro de la secuencia de aminoácidos del dominio CH2 correspondiente a 309 y 321 (numeración de Kabat).
- [164]** En una forma de realización de la invención se elimina un sitio de glicosilación en la posición 314 de Kabat del dominio CH2. Se prefiere que esta eliminación del sitio de glicosilación sea lograda mediante una sustitución N314X, en donde X es cualquier aminoácido excluyendo Q. Dicha sustitución es preferiblemente una sustitución N314G. En una forma de realización más preferida, dicho dominio CH2 comprende además las siguientes sustituciones (posición de acuerdo con Kabat) V321C y R309C (estas sustituciones introducen el puente disulfuro de cisteínas intradominio en las posiciones 309 y 321 de Kabat).
- [165]** Se asume que las características preferidas del constructo de anticuerpo de la invención comparadas por ejemplo con el constructo de anticuerpo heteroFc biespecífico conocido en el arte (Figura 1b) pueden estar entre otras relacionadas con la introducción de las modificaciones antes descritas en el dominio CH2. Así, se prefiere para el constructo de la invención que los dominios CH2 en el tercer dominio del constructo de anticuerpo de la invención comprendan el puente disulfuro de cisteínas *intra* dominio en las posiciones 309 y 321 de Kabat y/o el sitio de glicosilación en la posición 314 de Kabat esté eliminado mediante una sustitución N314X como anteriormente, preferiblemente por una sustitución N314G.
- [166]** En una forma de realización adicionalmente preferida de la invención, los dominios CH2 en el tercer dominio del constructo de anticuerpo de la invención comprenden el puente disulfuro de cisteínas *intra* dominio en las posiciones 309 y 321 de Kabat y el sitio de glicosilación en la posición 314 de Kabat está eliminado mediante una sustitución N314G. lo más preferible, el monómero polipeptídico del tercer dominio del constructo de anticuerpo de la invención tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 17 y 18.
- [167]** En una forma de realización, la invención provee un constructo de anticuerpo, en donde:
- (i) el primer dominio comprende dos dominios variables de anticuerpo y el segundo dominio comprende dos dominios variables de anticuerpo;

- (ii) el primer dominio comprende un dominio variable de anticuerpo y el segundo dominio comprende dos dominios variables de anticuerpo;
- (iii) el primer dominio comprende dos dominios variables de anticuerpo y el segundo dominio comprende un dominio variable de anticuerpo; o
- 5 (iv) el primer dominio comprende un dominio variable de anticuerpo y el segundo dominio comprende un dominio variable de anticuerpo.

[168] Por consiguiente, el primer y el segundo dominio pueden ser dominios de unión que comprenden cada uno dos dominios variables de anticuerpo tales como un dominio VH y uno VL. Ejemplos para tales dominios de unión que comprenden dos dominios variables de anticuerpo fueron descriptos en la presente más arriba y comprenden por ej. fragmentos Fv, fragmentos scFv o fragmentos Fab descriptos en la presente más arriba. Alternativamente, ya sea uno o ambos de esos dominios de unión pueden comprender solamente un único dominio variable. Ejemplos para tales dominios de unión de dominio único fueron descriptos en la presente más arriba y comprenden por ej. nanocuerpos o anticuerpos de dominio variable único que comprenden meramente un dominio variable, el cual puede ser VHH, VH o VL, que se une específicamente a un antígeno o epítipo independientemente de otros dominios o regiones V.

[169] En una forma de realización preferida del constructo de anticuerpo de la invención, el primer y segundo dominio están fusionados con el tercer dominio mediante un enlazador peptídico. Enlazadores peptídicos preferidos han sido descriptos en la presente más arriba y están caracterizados por la secuencia de aminoácidos Gly-Gly-Gly-Gly-Ser, es decir Gly₄Ser (SEQ ID NO: 1), o polímeros de la misma, es decir (Gly₄Ser)_x, en donde x es un entero de 1 o mayor (por ej. 2 o 3). Un enlazador particularmente preferido para la fusión del primer y segundo dominio al tercer dominio es ilustrado en SEQ ID No:1.

[170] En una forma de realización preferida el constructo de anticuerpo de la invención está caracterizado por comprender en el orden amino a carboxilo:

- (a) el primer dominio;
- (b) un enlazador peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOS: **1-3**;
- 30 (c) el segundo dominio;
- (d) un enlazador peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: **1, 2, 3, 9, 10, 11 y 12**;
- (e) el primer monómero polipéptido del tercer dominio;
- (f) un enlazador peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOS: **5, 6, 7 y 8**; y
- 35

(g) el segundo monómero polipeptídico del tercer dominio.

[171] El constructo de anticuerpo de la presente invención comprende un primer dominio que se une a PSMA, preferiblemente al dominio extracelular (ECD, por sus siglas en inglés) de PSMA. Se entiende que la expresión “que se une al dominio extracelular de PSMA”, en el contexto de la presente invención, implica que el dominio de unión se une a PSMA expresado en la superficie de una célula diana. El primer dominio de acuerdo con la invención en consecuencia preferiblemente se une a PSMA cuando es expresado mediante células o líneas celulares naturalmente expresadoras, y/o mediante células o líneas celulares transformadas o transfectadas (establemente/transitoriamente) con PSMA. En una forma de realización preferida el primer dominio de unión también se une a PSMA cuando PSMA es utilizado como una molécula “diana” o “ligando” en un ensayo de unión *in vitro* tal como BIAcore o Scatchard. La “célula diana” puede ser cualquier célula procariota o eucariota que expresa PSMA en su superficie; preferiblemente la célula diana es una célula que es parte del cuerpo humano o animal, tal como una célula de cáncer o tumoral que expresa PSMA.

[172] Preferiblemente, el primer dominio de unión se une a PSMA/ECD de PSMA. En una forma de realización preferida adicional, se une a PSMA/ECD de PSMA de macaco. De acuerdo con la forma de realización más preferida, este se une a ambos PSMA/ECD de PSMA, tanto humano como de macaco. El “dominio extracelular de PSMA” o “ECD de PSMA” se refiere a la región o secuencia de PSMA que está esencialmente libre de dominios de PSMA transmembrana y citoplasmáticos. Los expertos en el arte entenderán que el dominio transmembrana identificado por el polipéptido PSMA de la presente invención es identificado siguiendo criterios rutinariamente empleados en el arte para identificar ese tipo de dominio hidrófobo. Los límites exactos de un dominio transmembrana pueden variar, pero lo más probable es que no lo hagan en más de 5 aminoácidos en cada extremo del dominio específicamente mencionados en la presente.

[173] Dominios de unión preferidos que se unen a PSMA están descritos en WO 2010/037836, y WO 2011/121110. Cualquier dominio de unión para PSMA descrito en estas solicitudes puede ser utilizado en el contexto de la presente invención.

[174] En un aspecto de la presente invención, el constructo de anticuerpo comprende en el orden amino a carboxilo:

(a) el primer dominio que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 50, 56, 68, 74, 86, 92, 104, 110, 122, 128, 140, 146, 158, 164, 176, 182, 194, 200, 212, 218, 230, 236, 248, 254, 266, 272, 284, 290, 302, 308, 320, 335, 350, 365, 380, 395, 410, 425, 440, 455, 470;

- (b) un enlazador peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOS: 1-3;
 - (c) el segundo dominio que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOS: 23, 25, 41, 43, 59, 61, 77, 79, 95, 97, 113, 115, 131, 133, 149, 151, 167, 169, 185 o 187 de WO 2008/119567 o como se describe en SEQ ID NO: 15;
 - (d) un enlazador peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOS: 1, 2, 3, 9, 10, 11 y 12;
 - (e) el primer monómero polipeptídico del tercer dominio que tiene una secuencia polipeptídica seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOS: 17-24;
 - (f) un enlazador peptídico que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOS: 5, 6, 7 y 8; y
 - (g) el segundo monómero polipeptídico del tercer dominio que tiene una secuencia polipeptídica seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOS: 17-24.
- [175]** En línea con esta forma de realización preferida, el primer y segundo dominios que están fusionados mediante un enlazador peptídico a un polipéptido de cadena única comprenden una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 51, 57, 69, 75, 87, 93, 105, 111, 123, 129, 141, 147, 159, 165, 177, 183, 195, 201, 213, 219, 231, 237, 249, 255, 267, 273, 285, 291, 303, 309, 321, 324, 336, 339, 351, 354, 366, 369, 381, 384, 396, 399, 411, 414, 426, 429, 441, 444, 456, 459, 471 y 474.
- [176]** En un aspecto el constructo de anticuerpo de la invención está caracterizado por tener una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NOS: 52, 53, 58, 59, 70, 71, 76, 77, 88, 89, 94, 95, 106, 107, 112, 113, 124, 125, 130, 131, 142, 143, 148, 149, 160, 161, 166, 167, 178, 179, 184, 185, 196, 197, 202, 203, 214, 215, 220, 221, 232, 233, 238, 239, 250, 251, 256, 257, 268, 269, 274, 275, 286, 287, 292, 293, 304, 305, 310, 311, 322, 323, 325, 326, 337, 338, 340, 341, 352, 353, 355, 356, 367, 368, 370, 371, 382, 383, 385, 386, 397, 398, 400, 401, 412, 413, 415, 416, 427, 428, 430, 431, 442, 443, 445, 446, 457, 458, 460, 461, 472, 473, 475 y 476.
- [177]** La invención además provee un polinucleótido/molécula de ácido nucleico que codifica un constructo de anticuerpo de la invención. Un polinucleótido es un biopolímero compuesto de 13 o más monómeros nucleotídicos unidos covalentemente en una cadena. El ADN (tal como el ADNc) y el ARN (tal como el ARNm) son ejemplos de polinucleótidos con función biológica distinta. Los nucleótidos son moléculas orgánicas que sirven como los monómeros o subunidades de las moléculas de ácido nucleico como ADN o ARN. La molécula de ácido nucleico o polinucleótido puede ser de doble hebra y de hebra simple, lineal y circular. Preferiblemente está comprendido en un vector que está preferiblemente comprendido en una

célula hospedadora. Dicha célula hospedadora es, por ej., luego de la transformación o transfección con el vector o el polinucleótido de la invención, capaz de expresar el constructo de anticuerpo. Con ese fin, el polinucleótido o molécula de ácido nucleico está operativamente unido con secuencias de control.

5 **[178]** El código genético es el conjunto de reglas mediante las cuales la información codificada dentro del material genético (ácidos nucleicos) es traducida a proteínas. La decodificación biológica en células vivientes es llevada a cabo por el ribosoma el cual une los aminoácidos en un orden especificado por el ARNm, utilizando moléculas de ARNt para
10 acarrear a los aminoácidos y para leer los tres nucleótidos de ARNm a la vez. El código define cómo las secuencias de estos tripletes de nucleótidos, denominados codones, especifican cuál aminoácido será agregado luego durante la síntesis de proteínas. Con algunas excepciones, un codón de tres nucleótidos en una secuencia de ácido nucleico especifica un
15 único aminoácido. Debido a que la vasta mayoría de genes están codificados con exactamente el mismo código, este particular código es a menudo referido como código genético canónico o estándar. Mientras que el código genético determina la secuencia proteica para una dada región codificante, otras regiones genómicas pueden influenciar cuándo y dónde estas proteínas serán producidas.

[179] Además, la invención provee un vector que comprende un polinucleótido/molécula de ácido nucleico de la invención. Un vector es una molécula de ácido nucleico utilizada como
20 un vehículo para transferir material genético (foráneo) dentro de una célula. El término “vector” abarca – pero no está restringido a – plásmidos, virus, cósmidos y cromosomas artificiales. En general, los vectores preparados mediante ingeniería genética comprenden un origen de replicación, un sitio de clonado múltiple y un marcador seleccionable. El vector en sí mismo es generalmente una secuencia nucleotídica, comúnmente una secuencia de ADN, que
25 comprende un inserto (transgen) y una secuencia mayor que sirve como el “esqueleto” del vector. Los vectores modernos pueden abarcar características adicionales además del inserto de transgen y un esqueleto: promotor, marcador genético, resistencia a antibiótico, gen reportero, secuencia direccionante, etiqueta para purificación de proteína. Los vectores denominados vectores de expresión (constructos de expresión) específicamente son para la
30 expresión del transgen en la célula diana, y generalmente tienen secuencias de control.

[180] La expresión “secuencias de control” se refiere a secuencias de ADN necesarias para la expresión de una secuencia codificante operativamente unida en un organismo hospedador en particular. Las secuencias de control que son adecuadas para procariotas, por ejemplo, incluyen un promotor, opcionalmente una secuencia operadora, y un sitio de unión a ribosoma.

Se conoce que las células eucariotas utilizan promotores, señales de poliadenilación y potenciadores.

- 5 **[181]** Un ácido nucleico está “operativamente unido” cuando es colocado en una relación funcional con otra secuencia de ácido nucleico. Por ejemplo, el ADN para una pre-secuencia o un líder secretor está operativamente unido a ADN para un polipéptido si es expresado como una pre-proteína que participa en la secreción del polipéptido; un promotor o potenciador está operativamente unido a una secuencia codificante si éste afecta la transcripción de la secuencia; o un sitio de unión a ribosoma está operativamente unido a una secuencia codificante si éste está posicionado de modo de facilitar la traducción. Generalmente, “operativamente unido” significa que las secuencias de ADN que están siendo unidas son contiguas, y, en el caso de un líder secretor, contigua y en fase de lectura. No obstante, los potenciadores no necesitan ser contiguos. La unión es lograda mediante ligación en sitios de restricción convenientes. Si dichos sitios no existen, se utilizan los adaptadores o enlazadores oligonucleotídicos sintéticos de acuerdo con la práctica convencional.
- 10
- 15 **[182]** “Transfección” es el proceso de introducir deliberadamente moléculas de ácido nucleico o polinucleótidos (incluyendo vectores) dentro de células diana. El término es mayormente utilizado para métodos no virales en células eucariotas. La transducción es a menudo utilizada para describir la transferencia mediada por virus de moléculas de ácido nucleico o polinucleótidos. La transfección de células animales típicamente involucra abrir poros u “orificios” transientes en la membrana celular, para permitir la entrada del material. La transfección puede ser llevada a cabo utilizando fosfato de calcio, mediante electroporación, mediante compresión celular o mediante mezclado con un lípido catiónico con el material para producir liposomas, los que se fusionan con la membrana celular y depositan su carga en el interior.
- 20
- 25 **[183]** El término “transformación” es utilizado para describir la transferencia no viral de moléculas de ácido nucleico o polinucleótidos (incluyendo vectores) dentro de bacterias, y también dentro de células eucariotas no animales, incluyendo células de planta. La transformación es por lo tanto la alteración genética de una célula bacteriana o eucariota no animal que resulta de la entrada directa a través de la/s membrana/s celular/es, desde sus entornos, y la subsiguiente incorporación, de material genético exógeno (moléculas de ácido nucleico). La transformación puede ser efectuada por medios artificiales. Para que la transformación ocurra, las células o bacterias deben estar en un estado de competencia, lo cual puede ocurrir como una respuesta limitada en el tiempo a condiciones ambientales tales como inanición y densidad celular.
- 30

[184] Además, la invención provee una célula hospedadora transformada o transfectada con el polinucleótido / molécula de ácido nucleico o con el vector de la invención. Como se utiliza en la presente, las expresiones “célula hospedadora” o “célula receptora” pretenden incluir cualquier célula individual o cultivo celular que puede ser o que haya/n sido receptores de
5 vectores, moléculas de ácido nucleico exógeno, y polinucleótidos que codifican el constructo de anticuerpo de la presente invención; y/o receptores del constructo de anticuerpo en sí mismo. La introducción del respectivo material dentro de la célula es llevada a cabo por medio de transformación, transfección y lo similar. La expresión “célula hospedadora” también pretende incluir la progenie o potencial progenie de una célula única. Dado que ciertas
10 modificaciones pueden ocurrir en generaciones sucesivas debido a ya sea mutación natural, accidental o deliberada, o debido a influencias ambientales, dicha progenie puede, de hecho, no ser completamente idéntica (en morfología o en complemento de ADN genómico o total) a la célula parental, pero aún está incluida dentro del alcance del término, como se utiliza en la presente. Las células hospedadoras adecuadas incluyen células procariotas o eucariotas, y
15 también incluyen, pero no se limitan a, bacterias, células de levadura, células de hongo, células de planta, y células animales tales como células de insecto y células de mamífero, por ej., murinas, de rata, de macaco o humanas.

[185] El constructo de anticuerpo de la invención puede ser producido en bacterias. Luego de la expresión, el constructo de anticuerpo de la invención es aislado a partir de pasta celular
20 de *E. coli* en una fracción soluble y puede ser purificado a través de, por ej., cromatografía de afinidad y/o de exclusión por tamaño. La purificación final puede ser llevada a cabo de manera similar al procedimiento para purificación de anticuerpo expresado por ej., en células CHO.

[186] Además de los procariotas, los microbios eucariotas tales como los hongos filamentosos o las levaduras son adecuados hospedadores de clonado o expresión, para el
25 constructo de anticuerpo de la invención. *Saccharomyces cerevisiae*, o levadura común de panadería, es la más comúnmente utilizada entre los microorganismos hospedadores eucariotas inferiores. No obstante, están comúnmente disponibles y útiles en la presente, una cantidad de otros géneros, especies, y cepas, tales como *Schizosaccharomyces pombe*, hospedadores *Kluyveromyces* tales como *K. lactis*, *K. fragilis* (ATCC 12424), *K. bulgaricus*
30 (ATCC 16045), *K. wickerhamii* (ATCC 24178), *K. waltii* (ATCC 56500), *K. drosophilum* (ATCC 36906), *K. thermotolerans*, y *K. marxianus*; *Yarrowia* (EP 402 226); *Pichia pastoris* (EP 183 070); *Candida*; *Trichoderma reesia* (EP 244 234); *Neurospora crassa*; *Schwanniomyces* tales como *Schwanniomyces occidentalis*; y hongos filamentosos tales como *Neurospora*, *Penicillium*, *Tolypocladium*, y hospedadores *Aspergillus* tales como *A. nidulans* y *A. niger*.

[187] Las células hospedadoras adecuadas para la expresión del constructo de anticuerpo glicosilado de la invención están derivadas a partir de organismos multicelulares. Ejemplos de células de invertebrados incluyen células de planta y de insecto. Se han identificado numerosas cepas de baculovirus y variantes, y las correspondientes células hospedadoras de insecto permisivas, tales como *Spodoptera frugiperda* (oruga), *Aedes aegypti* (mosquito), *Aedes albopictus* (mosquito), *Drosophila melanogaster* (mosca de la fruta), y *Bombyx mori*. Una variedad de cepas virales para transfección están disponibles públicamente, por ej., la variante L-1 de NPV de *Autographa californica* y la cepa Bm-5 de NPV de *Bombyx mori*, y dichos virus pueden ser utilizados aquí como el virus de acuerdo con la presente invención, particularmente para la transfección de células de *Spodoptera frugiperda*.

[188] Los cultivos de células de planta de algodón, maíz, papa, soja, petunia, tomate, *Arabidopsis* y tabaco, también pueden ser utilizados como hospedadores. Los vectores de clonado y de expresión útiles en la producción de proteínas en cultivos de células de planta son conocidos por aquellos expertos en el arte. Ver, por ej., Hiatt *et al.*, Nature (1989) 342: 76-78, Owen *et al.* (1992) Bio/Technology 10: 790-794, Artsaenko *et al.* (1995) The Plant J 8: 745-750, y Fecker *et al.* (1996) Plant Mol Biol 32: 979-986.

[189] No obstante, el interés ha sido mayor en las células de vertebrados, y la propagación de células de vertebrados en cultivo (cultivo de tejido) se ha vuelto un procedimiento de rutina. Ejemplos de líneas celulares útiles hospedadoras de mamífero son la línea CV1 de riñón de mono transformada por SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651); la línea de riñón embrionario humano (células 293 o 293 subclonadas para el crecimiento en cultivo en suspensión, Graham *et al.*, J. Gen Virol. 36 : 59 (1977)); células de riñón de hámster bebé (BHK, ATCC CCL 10); células de ovario de hámster chino /-DHFR (CHO, Urlaub *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216 (1980)); células de Sertoli de ratón (TM4, Mather, Biol. Reprod. 23: 243-251 (1980)); células de riñón de mono (CV1 ATCC CCL 70); células de riñón de mono verde Africano (VERO-76, ATCC CRL1587); células de carcinoma cervical humano (HELA, ATCC CCL 2); células de riñón canino (MDCK, ATCC CCL 34); células de hígado de ratas búfalo (BRL 3A, ATCC CRL 1442); células de pulmón humano (W138, ATCC CCL 75); células de hígado humano (Hep G2, 1413 8065); tumor mamario de ratón (MMT 060562, ATCC CCL5 1); células TRI (Mather *et al.*, Annals N. Y. Acad. Sci. (1982) 383: 44-68); células MRC 5; células FS4; y una línea de hepatoma humano (Hep G2).

[190] En una forma de realización adicional, la invención provee un procedimiento para la producción de un constructo de anticuerpo de la invención, comprendiendo dicho procedimiento cultivar una célula hospedadora de la invención bajo condiciones que permiten

la expresión del constructo de anticuerpo de la invención y recuperar el constructo de anticuerpo producido a partir del cultivo.

[191] Como se utiliza en la presente, el término “cultivar” se refiere al mantenimiento, diferenciación, crecimiento, proliferación y/o propagación *in vitro* de células bajo condiciones adecuadas en un medio. El término “expresión” incluye cualquier etapa involucrada en la producción de un constructo de anticuerpo de la invención incluyendo, pero sin limitarse a, transcripción, modificación post-transcripcional, traducción, modificación post-traducciona, y secreción.

[192] Cuando se utilizan técnicas recombinantes, el constructo de anticuerpo puede ser producido intracelularmente, en el espacio periplásmico, o directamente secretado dentro del medio. Si el constructo de anticuerpo es producido intracelularmente, como primera etapa, los restos celulares particulados, ya sean células hospedadoras o fragmentos lisados, son eliminados, por ejemplo, mediante centrifugación o ultrafiltración. Carter *et al.*, Bio/Technology 10: 163-167 (1992) describen un procedimiento para aislar anticuerpos que son secretados al espacio periplásmico de *E. coli*. Brevemente, la pasta celular es descongelada en presencia de acetato de sodio (pH 3,5), EDTA, y fenilmetilsulfonilfluoruro (PMSF) durante aproximadamente 30 min. Los restos celulares pueden ser eliminados mediante centrifugación. Cuando el anticuerpo es secretado al medio, los sobrenadantes de dichos sistemas de expresión son generalmente primero concentrados utilizando un filtro para concentración de proteínas disponible comercialmente, por ejemplo, una unidad Amicon o Millipore Pellicon para ultrafiltración. Se puede incluir un inhibidor de proteasa tal como PMSF en cualquiera de las etapas precedentes para inhibir la proteólisis y se pueden incluir antibióticos para evitar el crecimiento de contaminantes adventicios.

[193] El constructo de anticuerpo de la invención preparado a partir de las células hospedadoras puede ser recuperado o purificado utilizando, por ejemplo, cromatografía con hidroxilapatita, electroforesis en gel, diálisis, y cromatografía por afinidad. También están disponibles otras técnicas para la purificación de proteínas tales como fraccionamiento sobre una columna de intercambio iónico, precipitación con etanol, HPLC de Fase Inversa, cromatografía sobre sílice, cromatografía sobre heparina SEPHAROSE™, cromatografía sobre una resina de intercambio aniónico o catiónico (tal como una columna de ácido poliaspártico), cromato-enfoque, SDS-PAGE, y precipitación con sulfato de amonio, dependiendo del anticuerpo a ser recuperado. Cuando el constructo de anticuerpo de la invención comprende un dominio CH3, la resina Bakerbond ABX (J.T. Baker, Phillipsburg, NJ) es útil para la purificación.

[194] La cromatografía por afinidad es una técnica de purificación preferida. La matriz a la cual el ligando de afinidad está unido es muy a menudo agarosa, pero están disponibles otras matrices. Las matrices mecánicamente estables tales como vidrio de poro controlado, o poli(estirenodivinil)benceno permiten caudales más rápidos y tiempos de procesamiento más cortos que los que pueden lograrse con agarosa.

[195] Además, la invención provee una composición farmacéutica que comprende un constructo de anticuerpo de la invención o un constructo de anticuerpo producido de acuerdo con el procedimiento de la invención. Se prefiere para la composición farmacéutica de la invención que la homogeneidad del constructo de anticuerpo sea $\geq 80\%$, más preferiblemente $\geq 81\%, \geq 82\%, \geq 83\%, \geq 84\%$, o $\geq 85\%$, adicionalmente preferiblemente $\geq 86\%, \geq 87\%, \geq 88\%, \geq 89\%$, o $\geq 90\%$, aún adicionalmente preferiblemente, $\geq 91\%, \geq 92\%, \geq 93\%, \geq 94\%$, o $\geq 95\%$ y lo más preferible $\geq 96\%, \geq 97\%, \geq 98\%$ o $\geq 99\%$.

[196] Como se utiliza en la presente, la expresión “composición farmacéutica” se refiere a una composición que es adecuada para la administración a un paciente, preferiblemente un paciente humano. La composición farmacéutica particularmente preferida de esta invención comprende uno o una pluralidad del/de los constructo/s de anticuerpo de la invención, preferiblemente en una cantidad terapéuticamente efectiva. Preferiblemente, la composición farmacéutica además comprende formulaciones adecuadas de uno o más portadores, estabilizantes, excipientes, diluyentes, solubilizantes, surfactantes, emulsionantes, conservantes y/o adyuvantes farmacéuticamente efectivos. Los constituyentes aceptables de la composición son preferiblemente no tóxicos para los receptores a las dosis y concentraciones empleadas. Las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen, pero no se limitan a, composiciones líquidas, congeladas y liofilizadas.

[197] Las composiciones de la invención pueden comprender un portador farmacéuticamente aceptable. En general, como se utiliza en la presente, “portador farmacéuticamente aceptable” significa cualquiera y todos de: soluciones acuosas y no acuosas, soluciones estériles, solventes, buffers, por ej., soluciones salinas tamponadas con fosfato (PBS, por sus siglas en inglés), agua, suspensiones, emulsiones, tales como emulsiones aceite/agua, diversos tipos de agentes humectantes, liposomas, medios de dispersión y recubrimientos, los cuales son compatibles con la administración farmacéutica, en particular con la administración parenteral. El uso de dichos medios y agentes en las composiciones farmacéuticas es bien conocido en el arte, y las composiciones que comprenden dichos portadores pueden ser formuladas mediante métodos convencionales bien conocidos.

[198] Ciertas formas de realización proveen composiciones farmacéuticas que comprenden el constructo de anticuerpo de la invención y además uno o más excipientes tales como aquellos descritos de manera ilustrativa en esta sección y en otra parte en la presente. Pueden utilizarse excipientes en la invención en este aspecto, para una amplia variedad de propósitos, tales como ajustar las propiedades físicas, químicas o biológicas de las formulaciones, tales como el ajuste de la viscosidad, y/o procedimientos de la invención para mejorar la efectividad y/o para estabilizar dichas formulaciones y procedimientos contra la degradación o el deterioro debido a, por ejemplo, las situaciones de estrés desfavorables que ocurren durante la fabricación, el transporte, el almacenamiento, la preparación pre-uso, la administración, y posteriormente.

[199] En ciertas formas de realización, la composición farmacéutica puede contener materiales para formulación con el objeto de modificar, mantener o conservar, por ej., el pH, la osmolaridad, la viscosidad, la claridad, el color, la isotonicidad, el olor, la esterilidad, la estabilidad, la tasa de disolución o de liberación, la adsorción o la penetración de la composición (ver, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18ª. Edición, (A.R. Genrmo, ed.), 1990, Mack Publishing Company). En dichas formas de realización, los materiales para formulación adecuados pueden incluir, sin limitación:

- aminoácidos tales como glicina, alanina, glutamina, asparagina, treonina, prolina, 2-fenilalanina, incluyendo aminoácidos cargados, preferiblemente lisina, acetato de lisina, arginina, glutamato y/o histidina;
- agentes antimicrobianos tales como agentes antibacterianos y antifúngicos;
- antioxidantes tales como ácido ascórbico, metionina, sulfito de sodio o hidrógeno-sulfito de sodio;
- buffers, sistemas buffer y agentes buffer que son utilizados para mantener la composición a pH fisiológico o a un pH ligeramente más bajo; ejemplos de buffers son borato, bicarbonato, Tris-HCl, citratos, fosfatos u otros ácidos orgánicos, succinato, fosfato e histidina; por ejemplo buffer Tris de pH aproximadamente 7,0-8,5;
- solventes no acuosos tales como propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo;
- portadores acuosos incluyendo agua, soluciones alcohólicas/acuosas, emulsiones o suspensiones, incluyendo solución salina y medios tamponados;
- polímeros biodegradables tales como poliésteres;
- agentes de carga tales como manitol o glicina;
- agentes quelantes tales como ácido etilendiamintetraacético (EDTA);
- agentes isotónicos y retardantes de la absorción;

- agentes complejantes tales como cafeína, polivinilpirrolidona, beta-ciclodextrina o hidroxipropil-beta-ciclodextrina);
- agentes de relleno;
- monosacáridos; disacáridos; y otros carbohidratos (tales como glucosa, manosa o dextrinas); los carbohidratos pueden ser azúcares no reductores, preferiblemente trehalosa, sacarosa, octasulfato, sorbitol o xilitol;
- proteínas, polipéptidos o portadores proteicos (de bajo peso molecular), tales como albúmina de suero humano o bovino, gelatina o inmunoglobulinas, preferiblemente de origen humano;
- agentes colorantes y saborizantes;
- agentes reductores que contienen azufre, tales como glutatión, ácido tióctico, tioglicolato de sodio, tioglicerol, [alfa]-monotioglicerol y tiosulfato de sodio;
- agentes diluyentes;
- agentes emulsionantes;
- polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona;
- contraiones formadores de sales tales como sodio;
- conservantes tales como antimicrobianos, antioxidantes, agentes quelantes, gases inertes y lo similar; ejemplos son: cloruro de benzalconio, ácido benzoico, ácido salicílico, timerosal, alcohol de fenetilo, metilparabeno, propilparabeno, clorhexidina, ácido sórbico o peróxido de hidrógeno;
- complejos de metal tales como complejos de Zn-proteína;
- solventes y co-solventes (tales como glicerina, propilenglicol o polietilenglicol);
- azúcares y alcoholes de azúcar, tales como trehalosa, sacarosa, octasulfato, manitol, estaquiosa de sorbitol o xilitol, manosa, sorbosa, xilosa, ribosa, mioinositosa, galactosa, lactitol, ribitol, mioinisol, galactitol, glicerol, ciclitols (por ej., inositol), polietilenglicol; y alcoholes de azúcar polihídrico;
- agentes para suspensión;
- surfactantes o agentes humectantes tales como plurónicos, PEG, ésteres de sorbitano, polisorbato tales como polisorbato 20, polisorbato, triton, trometamina, lecitina, colesterol, tiloxapal; los surfactantes pueden ser detergentes, preferiblemente con un peso molecular de >1,2 KD y/o un poliéter, preferiblemente con un peso molecular de >3 KD; ejemplos no limitantes de los detergentes preferidos son Tween 20, Tween 40, Tween 60, Tween 80 y Tween 85; ejemplos no limitantes de los poliéteres preferidos son PEG 3000, PEG 3350, PEG 4000 y PEG 5000;
- agentes mejoradores de la estabilidad tales como sacarosa o sorbitol;
- agentes mejoradores de la tonicidad tales como haluros de metales alcalinos, preferiblemente cloruro de sodio o de potasio, manitol sorbitol;

- vehículos para suministro parenteral que incluyen solución de cloruro de sodio, dextrosa de Ringer, dextrosa y cloruro de sodio, Ringer lactato, o aceites fijos;
- vehículos para suministro intravenoso que incluyen repositorios de fluidos y nutrientes, repositorios de electrolitos (tales como aquellos basados en dextrosa de Ringer).

5 **[200]** Es evidente para los expertos en el arte que los diferentes constituyentes de la composición farmacéutica (por ej., aquellos listados anteriormente) pueden tener diferentes efectos, por ejemplo, y un aminoácido puede actuar como un buffer, un estabilizador y/o un antioxidante; el manitol puede actuar como un agente de carga y/o un agente mejorador de la tonicidad; el cloruro de sodio puede actuar como vehículo para suministro y/o agente
10 mejorador de la tonicidad; etc.

[201] Está contemplado que la composición de la invención pueda comprender, además del polipéptido de la invención definido en la presente, otros agentes biológicamente activos, dependiendo del uso pretendido de la composición. Dichos agentes pueden ser drogas que actúan sobre el sistema gastrointestinal, drogas que actúan como citostáticos, drogas que
15 previenen la hiperuricemia, drogas que inhiben inmunorreacciones (por ej., corticoesteroides), drogas que modulan la respuesta inflamatoria, drogas que actúan sobre el sistema circulatorio y/o agentes tales como citoquinas conocidas en el arte. También está contemplado que el constructo de anticuerpo de la presente invención sea aplicado en una co-terapia, es decir, en combinación con otro medicamento anti-cáncer.

20 **[202]** En ciertas formas de realización, la composición farmacéutica óptima será determinada por un experto en el arte, dependiendo de, por ejemplo, la ruta de administración pretendida, el formato de suministro y la dosis deseada. Ver, por ejemplo, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, *supra*. En ciertas formas de realización, dichas composiciones pueden influenciar el estado físico, la estabilidad, la tasa de liberación *in vivo*
25 y la tasa de eliminación *in vivo* del constructo de anticuerpo de la invención. En ciertas formas de realización, el vehículo o portador primario en una composición farmacéutica puede ser, o bien de naturaleza acuosa o no acuosa. Por ejemplo, un vehículo o portador adecuado puede ser agua para inyección, solución salina fisiológica o líquido cefalorraquídeo artificial, posiblemente suplementado con otros materiales comunes en las composiciones para
30 administración parenteral. Vehículos de ejemplo adicionales son solución salina tamponada neutral o solución salina mezclada con albúmina sérica. En ciertas formas de realización, las composiciones del constructo de anticuerpo de la invención pueden ser preparadas para almacenamiento mezclando la composición seleccionada que tiene el grado deseado de pureza con agentes opcionales para formulación (REMINGTON'S PHARMACEUTICAL
35 SCIENCES, *supra*) en la forma de una torta liofilizada o una solución acuosa. Además, en

ciertas formas de realización, el constructo de anticuerpo de la invención puede estar formulado como un liofilizado utilizando excipientes apropiados tales como sacarosa.

[203] Cuando esté contemplada la administración parenteral, las composiciones terapéuticas para el uso en esta invención pueden ser provistas en la forma de una solución acuosa parenteralmente aceptable, libre de pirógenos, que comprende el constructo de anticuerpo deseado de la invención en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Un vehículo particularmente adecuado para la inyección parenteral es el agua destilada estéril en la cual se formula el constructo de anticuerpo de la invención como una solución isotónica, estéril, adecuadamente conservada. En ciertas formas de realización, la preparación puede involucrar la formulación de la molécula deseada con un agente, tal como microesferas inyectables, partículas bio-erosionables, compuestos poliméricos (tales como ácido poliláctico o ácido poliglicólico), perlas o liposomas, que pueden proveer liberación controlada o sostenida del producto, el cual puede ser suministrado mediante una inyección de depósito. En ciertas formas de realización, también puede utilizarse ácido hialurónico, que tiene el efecto de promover una duración sostenida en la circulación. En ciertas formas de realización, pueden utilizarse dispositivos de suministro implantables de droga para introducir el constructo de anticuerpo deseado.

[204] Las composiciones farmacéuticas adicionales serán evidentes para aquellos expertos en el arte, incluyendo formulaciones que involucren el constructo de anticuerpo de la invención en formulaciones de liberación/suministro sostenido o controlado. Las técnicas para formulación de una variedad de otros medios de suministro sostenido o controlado, tales como portadores liposomales, micropartículas bio-erosionables o perlas porosas, e inyecciones de depósito, también son conocidas por aquellos expertos en el arte. Ver, por ejemplo, la Solicitud Internacional de Patente No. PCT/US93/00829, la cual describe la liberación controlada de micropartículas poliméricas porosas para el suministro de composiciones farmacéuticas. Las preparaciones de liberación sostenida pueden incluir matrices poliméricas semipermeables en la forma de artículos conformados, por ej., películas o microcápsulas. Las matrices para liberación sostenida pueden incluir poliésteres, hidrogeles, poliláctidos (como se divulga en la patente US 3,773,919 y en la publicación de solicitud de patente Europea No. EP 058481), copolímeros de ácido L-glutámico y gama L-glutamato de etilo (Sidman *et al.*, 1983, *Biopolymers* 2:547-556), poli(2-hidroxietil-metacrilato) (Langer *et al.*, 1981, *J. Biomed. Mater. Res.* 15:167-277 y Langer, 1982, *Chem. Tech.* 12:98-105), vinilacetato de etileno (Langer *et al.*, 1981, *supra*) o ácido poli-D(-)-3-hidroxibutírico (publicación de solicitud de patente Europea No. EP 133,988). Las composiciones de liberación sostenida también pueden incluir liposomas que pueden ser preparados mediante cualquiera de los varios métodos conocidos en el arte. Ver, por ej., Eppstein *et al.*, 1985, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82:3688-3692;

publicaciones de solicitudes Europeas de patente Nos. EP 036,676; EP 088,046 y EP 143,949.

[205] El constructo de anticuerpo también puede estar atrapado en microcápsulas preparadas, por ejemplo, mediante técnicas de coacervación o mediante polimerización interfase (por ejemplo, hidroximetilcelulosa o microcápsulas de gelatina y microcápsulas de poli(metilmetacrilato), respectivamente), en sistemas de suministro coloidal de drogas (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas), o en macroemulsiones. Dichas técnicas están descritas en Remington's Pharmaceutical Sciences, 16a. edición, Oslo, A., Ed., (1980).

[206] Las composiciones farmacéuticas utilizadas para la administración *in vivo* son típicamente provistas como preparaciones estériles. La esterilización puede lograrse mediante filtración a través de membranas de filtración estériles. Cuando la composición es liofilizada, la esterilización utilizando este método puede ser llevada a cabo ya sea antes o luego de la liofilización y reconstitución. Las composiciones para administración parenteral pueden ser almacenadas en forma liofilizada o en una solución. Las composiciones parenterales generalmente son ubicadas dentro de un contenedor que tiene un puerto de acceso estéril, por ejemplo, una bolsa o vial con solución intravenosa que tiene un tapón perforable por una aguja para inyección hipodérmica.

[207] Otro aspecto de la invención incluye formulaciones auto-tamponables de un constructo de anticuerpo de la invención, que pueden ser utilizadas como composiciones farmacéuticas, como se describe en la solicitud internacional de patente WO 06/138181A2 (PCT/US2006/022599). Hay disponibles una variedad de exposiciones sobre estabilización de proteínas y materiales de formulación y métodos útiles en este aspecto, tal como Arakawa *et al.*, "*Solvent interactions in pharmaceutical formulations*," Pharm Res. 8(3): 285-91 (1991); Kendrick *et al.*, "*Physical stabilization of proteins in aqueous solution*" en: RATIONAL DESIGN OF STABLE PROTEIN FORMULATIONS: THEORY AND PRACTICE, Carpenter y Manning, eds. Pharmaceutical Biotechnology. 13: 61-84 (2002), y Randolph *et al.*, "*Surfactant-protein interactions*", Pharm Biotechnol. 13: 159-75 (2002), ver particularmente las partes pertinentes a excipientes y procesos de los mismos para formulaciones auto-tamponables de proteínas, de acuerdo con la presente invención, especialmente en cuanto a los procesos y los productos farmacéuticos proteicos para usos veterinario y/o para medicina humana.

[208] Las sales pueden ser empleadas de acuerdo con ciertas formas de realización de la invención para, por ejemplo, ajustar la fuerza iónica y/o la isotonicidad de una formulación y/o para mejorar la solubilidad y/o estabilidad física de una proteína u otro ingrediente de una composición, de acuerdo con la invención. Como es bien conocido, los iones pueden

estabilizar el estado nativo de las proteínas al unirse a residuos cargados sobre la superficie de la proteína, y protegiendo los grupos cargados y polares en la proteína, y reduciendo la fuerza de sus interacciones electrostáticas, interacciones de atracción y de repulsión. Los iones también pueden estabilizar el estado desnaturalizado de una proteína al unirse, en particular, a las uniones peptídicas desnaturalizadas ($--CONH$) de la proteína. Además, la interacción iónica con grupos cargados y polares en una proteína también puede reducir las interacciones electrostáticas intermoleculares y, de esta forma, evitar o reducir la agregación e insolubilidad de la proteína.

[209] Las especies iónicas difieren significativamente en sus efectos sobre las proteínas. Se ha establecido una cantidad de categorías de iones y sus efectos sobre las proteínas, que pueden utilizarse en la formulación de composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención. Un ejemplo es la serie Hofmeister, la cual clasifica solutos iónicos y polares no iónicos por su efecto sobre la estabilidad conformacional de las proteínas en solución. Los solutos que estabilizan son referidos como “cosmotrópicos”. Los solutos que desestabilizan son referidos como “caotrópicos”. Los cosmótopos son comúnmente utilizados a elevadas concentraciones (por ej., >1 molar de sulfato de amonio) para precipitar las proteínas de la solución (“*salting-out*”). Los caótopos son comúnmente utilizados para desnaturalizar y/o solubilizar proteínas (“*salting-in*”). La efectividad relativa de los iones para efectuar “*salting-in*” y “*salting-out*” define su posición en la serie Hofmeister.

[210] Pueden utilizarse aminoácidos libres en las formulaciones de constructo de anticuerpo de la invención, de acuerdo con diversas formas de realización de la invención, como agentes de carga, estabilizantes y antioxidantes, así como también para otros usos estándar. Se pueden utilizar lisina, prolina, serina y alanina para estabilizar proteínas en una formulación. La glicina es útil en la liofilización para asegurar una estructura de torta y propiedades correctas. La arginina puede ser útil para inhibir la agregación de proteína, tanto en formulaciones líquidas como liofilizadas. La metionina es útil como antioxidante.

[211] Los polioles incluyen azúcares, por ej., manitol, sacarosa y sorbitol y alcoholes polihídricos tales como, por ejemplo, glicerol y propilenglicol, y, a los efectos de la presente descripción, polietilenglicol (PEG) y sustancias relacionadas. Los polioles son cosmotrópicos. Los mismos son agentes estabilizantes útiles tanto en formulaciones líquidas como liofilizadas para proteger a las proteínas de los procesos de degradación físicos y químicos. Los polioles también son útiles para ajustar la tonicidad de las formulaciones. Entre los polioles útiles en formas de realización selectas de la invención está el manitol, comúnmente utilizado para asegurar la estabilidad estructural de la torta en formulaciones liofilizadas. El mismo asegura la estabilidad estructural de la torta. Generalmente es utilizado

con un lioprotector, por ej., sacarosa. El sorbitol y la sacarosa están entre los agentes preferidos para ajustar la tonicidad y como estabilizantes para proteger contra el estrés por congelamiento-descongelamiento durante el transporte o la preparación de lotes durante el procedimiento de fabricación. Los azúcares reductores (los cuales contienen grupos aldehído o cetona libres), tales como glucosa y lactosa, pueden glicar residuos lisina y arginina superficiales. Por lo tanto, generalmente, no están entre los polioles preferidos para el uso de acuerdo con la invención. Además, los azúcares que forman dichas especies reactivas, tales como sacarosa, la cual es hidrolizada a fructosa y glucosa bajo condiciones ácidas, y consiguientemente ocasiona la glicación, tampoco está entre los polioles preferidos de la invención en este aspecto. El PEG es útil para estabilizar proteínas y como un crioprotector y puede ser utilizado en la invención en este aspecto.

[212] Las formas de realización de formulaciones de constructo de anticuerpo de la invención además comprenden surfactantes. Las moléculas de proteína pueden ser susceptibles a la adsorción sobre superficies y a desnaturalización y consiguiente agregación en interfases aire-líquido, sólido-líquido y líquido-líquido. Estos efectos generalmente escalan de manera inversa con la concentración de proteína. Estas interacciones deletéreas generalmente escalan de manera inversa con la concentración de proteína y típicamente son exacerbadas mediante agitación física, tal como aquella generada durante el transporte y manipulación de un producto. Los surfactantes son rutinariamente utilizados para prevenir, minimizar, o reducir, la adsorción a superficies. Los surfactantes útiles en la invención en este aspecto, incluyen polisorbato 20, polisorbato 80, otros ésteres de ácidos grasos de polietoxilatos de sorbitano, y poloxámero 188. Los surfactantes también son comúnmente utilizados para controlar la estabilidad conformacional de las proteínas. El uso de surfactantes en este aspecto es específico de la proteína, dado que, cualquier surfactante dado estabilizará típicamente algunas proteínas y desestabilizará otras.

[213] Los polisorbatos son susceptibles a la degradación oxidativa y a menudo, como son suministrados, contienen cantidades suficientes de peróxidos para causar oxidación de las cadenas laterales de los residuos de la proteína, especialmente metionina. Consiguientemente, los polisorbatos deberían ser utilizados cuidadosamente, y cuando se los utiliza, deberían ser empleados a su concentración efectiva más baja. En este aspecto, los polisorbatos ejemplifican la regla general de que los excipientes deberían ser utilizados en sus concentraciones efectivas más bajas.

[214] Las formas de realización de formulaciones del constructo de anticuerpo de la invención además comprenden uno o más antioxidantes. Hasta cierto punto, la oxidación deletérea de proteínas puede evitarse en las formulaciones farmacéuticas manteniendo los

niveles apropiados de oxígeno y temperatura ambientes, y evitando la exposición a la luz. También se pueden utilizar excipientes antioxidantes para evitar la degradación oxidativa de las proteínas. Entre los antioxidantes útiles en este aspecto, están los agentes reductores, secuestradores de oxígeno/radicales libres, y agentes quelantes. Los antioxidantes para el uso en formulaciones terapéuticas de proteína de acuerdo con la invención preferiblemente son solubles en agua y mantienen su actividad a lo largo de la vida útil del producto. El EDTA es un antioxidante preferido de acuerdo con la invención en este aspecto. Los antioxidantes pueden dañar las proteínas. Por ejemplo, los agentes reductores, tales como glutatión en particular, pueden afectar las uniones disulfuro intramoleculares. Por lo tanto, los antioxidantes para el uso en la invención están seleccionados para, entre otras cosas, eliminar o reducir suficientemente la posibilidad de que ellos mismos dañen las proteínas en la formulación.

[215] Las formulaciones de acuerdo con la invención pueden incluir iones de metal que son co-factores de proteínas y que son necesarios para formar complejos de coordinación de proteínas, tales como el zinc, necesario para formar ciertas suspensiones de insulina. Los iones metálicos también pueden inhibir algunos procesos que degradan proteínas. No obstante, los iones metálicos también catalizan procesos físicos y químicos que degradan proteínas. Los iones magnesio (10-120 mM) pueden ser utilizados para inhibir la isomerización de ácido aspártico a ácido isoaspártico. Los iones Ca^{+2} (hasta 100 mM) pueden incrementar la estabilidad de la desoxirribonucleasa humana. No obstante, Mg^{+2} , Mn^{+2} , y Zn^{+2} , pueden desestabilizar rhDNasa. De manera similar, Ca^{+2} y Sr^{+2} pueden estabilizar el Factor VIII, el mismo puede ser desestabilizado por Mg^{+2} , Mn^{+2} y Zn^{+2} , Cu^{+2} y Fe^{+2} , y su agregación puede ser incrementada por iones Al^{+3} .

[216] Las formas de realización de formulaciones del constructo de anticuerpo de la invención además comprenden uno o más conservantes. Los conservantes son necesarios cuando se desarrollan formulaciones parenterales multi-dosis que involucran más de una extracción desde el mismo contenedor. Su función primaria es la de inhibir el crecimiento microbiano y asegurar la esterilidad del producto a lo largo de la vida útil o del término de uso del producto de droga. Los conservantes comúnmente utilizados incluyen alcohol bencílico, fenol y m-cresol. Aunque los conservantes tienen una larga historia de uso con los agentes parenterales de molécula pequeña, el desarrollo de formulaciones de proteína que incluye conservantes puede ser un desafío. Los conservantes casi siempre tienen un efecto desestabilizante (agregación) sobre las proteínas, y esto se ha vuelto un factor principal en la limitación de su uso en formulaciones de proteína multi-dosis. Hasta la fecha, la mayoría de las drogas proteicas han sido formuladas únicamente para un solo uso. No obstante, cuando son posibles las formulaciones multi-dosis, tienen la ventaja agregada de permitir la

conveniencia para el paciente y la comercialización incrementada. Un buen ejemplo es la hormona de crecimiento humana (hGH) donde el desarrollo de formulaciones conservadas ha conducido a la comercialización de presentaciones tipo lapicera, más convenientes, de inyección multiuso. Al menos cuatro de dichos dispositivos lapicera que contienen formulaciones conservadas de hGH están actualmente disponibles en el mercado. Norditropin (líquida, Novo Nordisk), Nutropin AQ (líquida, Genentech) y Genotropin (liofilizada—cartucho de cámara dual, Pharmacia & Upjohn) contienen fenol, mientras que Somatropo (Eli Lilly) está formulada con m-cresol. Varios aspectos necesitan ser considerados durante la formulación y el desarrollo de formas de dosificación conservadas. La concentración efectiva del conservante en el producto de droga debe ser optimizada. Esto requiere evaluar un conservante dado en la forma de dosificación con rangos de concentración que confieren efectividad anti-microbiana sin comprometer la estabilidad proteica.

[217] Tal como se puede esperar, el desarrollo de formulaciones líquidas que contienen conservantes implica un mayor desafío que las formulaciones liofilizadas. Los productos secados por congelamiento pueden ser liofilizados sin el conservante y reconstituidos con un diluyente que contiene el conservante al momento del uso. Esto acorta el tiempo durante el cual un conservante está en contacto con la proteína, minimizando significativamente los riesgos de estabilidad asociados. Con las formulaciones líquidas, la efectividad y la estabilidad del conservante deberían mantenerse a lo largo del tiempo completo en estantería del producto (aproximadamente 18 a 24 meses). Un importante punto a considerar es que la efectividad del conservante debería ser demostrada en la formulación final que contiene la droga activa y todos los componentes excipientes.

[218] Los constructos de anticuerpo divulgados en la presente también pueden estar formulados como inmuno-liposomas. Un “liposoma” es una pequeña vesícula compuesta de diversos tipos de lípidos, fosfolípidos y/o surfactante que es útil para el suministro de una droga a un mamífero. Los componentes del liposoma están comúnmente dispuestos en una formación en bicapa, similar al arreglo lipídico de las membranas biológicas. Los liposomas que contienen el constructo de anticuerpo están preparados mediante métodos conocidos en el arte, tal como se describe en Epstein *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 3688 (1985); Hwang *et al.*, Proc. Natl Acad. Sci. USA, 77: 4030 (1980); Patentes de US4,485,045 y US 4,544,545; y W0 97/38731. Los liposomas con tiempo de circulación mejorado se divulgan en la Patente US 5,013, 556. Se pueden generar liposomas particularmente útiles mediante el método de evaporación en fase inversa con una composición de lípidos que comprende fosfatidilcolina, colesterol y fosfatidiletanolamina derivatizada con PEG (PEG-PE). Los liposomas son extruidos a través de filtros de tamaño de poro definido para brindar liposomas con el diámetro deseado. Los fragmentos Fab' del constructo de anticuerpo de la presente

invención pueden ser conjugados a los liposomas como se describe en Martin *et al.* J. Biol. Chem. 257: 286-288 (1982) mediante una reacción de intercambio de disulfuro. Un agente quimioterapéutico está opcionalmente contenido dentro del liposoma. Ver Gabizon *et al.* J. National Cancer Inst. 81 (19) 1484 (1989).

- 5 **[219]** Una vez que la composición farmacéutica ha sido formulada, la misma puede ser almacenada en viales estériles como una solución, suspensión, gel, emulsión, sólido, cristal o como un polvo deshidratado o liofilizado. Dichas formulaciones pueden ser almacenadas ya sea en una forma lista para usar o en una forma (por ej., liofilizada) que es reconstituida previamente a la administración.

- 10 **[220]** La actividad biológica de la composición farmacéutica definida en la presente puede determinarse por ejemplo mediante ensayos de citotoxicidad, como se describe en los siguientes ejemplos, en WO 99/54440 o en Schlereth *et al.* (Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1-12). “Eficacia” o “eficacia *in vivo*” como se utiliza en la presente se refiere a la respuesta a la terapia por la composición farmacéutica de la invención, utilizando por ej.,
- 15 criterios de respuesta NCI estandarizados. El éxito o la eficacia *in vivo* de la terapia utilizando una composición farmacéutica de la invención se refiere a la efectividad de la composición para su objetivo pretendido, es decir, la capacidad de la composición de causar el efecto deseado, es decir, agotamiento de células patológicas, por ej., células tumorales. La eficacia *in vivo* puede monitorearse mediante métodos estándar establecidos para las respectivas
- 20 entidades de enfermedad, incluyendo, pero sin limitación, conteos de glóbulos blancos sanguíneos, diferenciales, clasificación de células activadas por fluorescencia, aspiración de médula ósea. Además, se pueden utilizar diversos parámetros químicos clínicos específicos de enfermedad y otros métodos estándar establecidos. Además, pueden utilizarse tomografía
- 25 auxiliada por computadora, rayos X, tomografía de resonancia magnética nuclear (por ej., para la evaluación de la respuesta en base a criterios del National Cancer Institute [Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors JM, Lister TA, Vose J, Grillo-Lopez A, Hagenbeek A, Cabanillas F, Klippensten D, Hiddemann W, Castellino R, Harris NL, Armitage JO, Carter W, Hoppe R, Canellos GP. *Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas*. Grupo de Trabajo Internacional Auspiciado
- 30 por el NCI. J Clin Oncol. Abril de 1999;17(4):1244]), barrido por tomografía de emisión de positrones, conteos de glóbulos blancos, diferenciales, clasificación de células activadas por fluorescencia, aspiración de médula ósea, biopsias/histología de nódulos linfáticos, y diversos parámetros químicos clínicos específicos de linfoma (por ej., lactato-deshidrogenasa) y otros métodos estándar establecidos.

[221] Otro desafío principal en el desarrollo de drogas tales como la composición farmacéutica de la invención es la modulación predecible de las propiedades farmacocinéticas. Con este fin, puede establecerse un perfil farmacocinético de la droga candidato, es decir, un perfil de los parámetros farmacocinéticos que afectan la capacidad de una droga particular para tratar una condición dada. Los parámetros farmacocinéticos de la droga que influyen la capacidad de una droga para tratar una entidad de enfermedad determinada, incluyen, pero no se limitan a: vida media, volumen de distribución, metabolismo hepático de primera pasada y grado de unión a suero sanguíneo. La eficacia de un agente de droga determinado puede estar influenciada por cada uno de los parámetros mencionados anteriormente. Está concebido como característica de los constructos de anticuerpo de la presente invención provistos con la modalidad específica Fc que ellos comprendan, por ejemplo, diferencias en el comportamiento farmacocinético. Un constructo de anticuerpo dirigido con vida media extendida de acuerdo con la presente invención preferiblemente muestra un tiempo de residencia *in vivo* sorprendentemente incrementado en comparación con las versiones no-HLE “canónicas” de dicho constructo de anticuerpo.

[222] La “vida media” significa el tiempo donde el 50% de una droga administrada es eliminada a través de procesos biológicos, por ej., metabolismo, excreción, etc. Se entiende por “metabolismo hepático del primer paso” la tendencia de la droga a ser metabolizada al primer contacto con el hígado, es decir, durante su primer paso a través del hígado. “Volumen de distribución” significa el grado de retención de una droga a través de diversos compartimentos del cuerpo, como por ej., espacios intracelulares y extracelulares, tejidos y órganos, etc. y la distribución de la droga dentro de estos compartimentos. “Grado de unión a suero sanguíneo” significa la tendencia de una droga a interactuar con, y a unirse a, proteínas del suero sanguíneo, tales como albúmina, conduciendo a una reducción o pérdida de actividad biológica de la droga.

[223] Los parámetros farmacocinéticos también incluyen biodisponibilidad, tiempo de latencia (Tlag), Tmax, velocidades de absorción, más manifestación y/o Cmax para una dada cantidad de droga administrada. “Biodisponibilidad” significa la cantidad de una droga en el compartimento sanguíneo. “Tiempo de latencia” significa el retraso temporal entre la administración de la droga y su detección y capacidad de medirla en sangre o en plasma. “Tmax” es el tiempo luego del cual se alcanza la concentración máxima en sangre de la droga, y “Cmax” es la concentración en sangre máxima obtenida con una dada droga. El tiempo para alcanzar una concentración de la droga en sangre o en tejido, que es requerida para su efecto biológico, está influenciado por todos los parámetros. Los parámetros farmacocinéticos de los constructos de anticuerpo biespecíficos que exhiben especificidad cruzada de especies, que pueden determinarse en evaluaciones clínicas en animales en primates no chimpancés como

se indicó anteriormente, también están establecidos por ej., en la publicación de Schlereth et al. (Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1-12).

5 [224] En un aspecto preferido de la invención, la composición farmacéutica es estable durante al menos cuatro semanas a aproximadamente -20°C. Como es evidente de los ejemplos anexos, la calidad de un constructo de anticuerpo de la invención vs. la calidad de los constructos del anticuerpo correspondiente del estado del arte puede ser ensayada utilizando diferentes sistemas. Esos ensayos, según se entiende, están en línea con las guías “ICH Harmonised Tripartite Guideline: *Stability Testing of Biotechnological/Biological Products Q5C and Specifications: Test procedures and Acceptance Criteria for Biotech* 10 *Biotechnological/Biological Products Q6B*” y, en consecuencia, son elegidos para proveer un perfil indicador de estabilidad que proporcione certeza de que serán detectados los cambios en la identidad, pureza y potencia del producto. Es bien aceptado que el término pureza es un término relativo. Debido al efecto de glicosilación, desamidación, u otras heterogeneidades, la pureza absoluta de un producto biotecnológico/biológico debe ser 15 típicamente evaluada mediante más de un método y el valor de pureza derivado es dependiente del método. Con el propósito de ensayar la estabilidad, los ensayos en cuanto a pureza deben focalizarse en métodos de determinación de productos de degradación.

[225] Para la evaluación de la calidad de una composición farmacéutica que comprende un constructo de anticuerpo de la invención, puede ser analizada por ej. analizando el contenido 20 de agregados solubles en una solución (HMWS por sus siglas en inglés) por exclusión por tamaño. Se prefiere que la estabilidad durante al menos cuatro semanas a -20°C esté caracterizada por un contenido de menos de 1,5% HMWS, preferiblemente en menos de 1% HMWS.

[226] Una formulación preferida para el constructo de anticuerpo como una composición 25 farmacéutica puede por ej. comprender los componentes de una formulación como se describe a continuación:

- Formulación:
fosfato de potasio, clorhidrato de L-arginina, dihidrato de trehalosa, polisorbato 80 a pH 6,0

30 [227] Otros ejemplos para la evaluación de la estabilidad de un constructo de anticuerpo de la invención en forma de una composición farmacéutica están provistos en los ejemplos 4-12 anexos. En esas formas de realización a modo de ejemplo, constructos de anticuerpo de la invención son ensayados con respecto a diferentes condiciones de estrés en diferentes formulaciones farmacéuticas y los resultados son comparados con otros formatos

extendedores de vida media (HLE) de constructos de anticuerpo biespecíficos que se ligan a células T conocidos en el arte. En general, se contempla que los constructos de anticuerpo provistos con la modalidad Fc específica de acuerdo con la presente invención son típicamente más estables frente a un amplio rango de condiciones de estrés, tal como estrés por temperatura y luz, comparado tanto con constructos de anticuerpo provistos con diferentes formatos HLE y sin ningún formato HLE (por ej. constructos de anticuerpo “canónicos”). Dicha estabilidad a la temperatura puede relacionarse tanto a temperatura disminuida (debajo de la temperatura ambiente incluyendo congelación) como aumentada (por encima de la temperatura ambiente incluyendo temperaturas hasta o por encima de la temperatura corporal). Como la persona experta en el arte conocerá, tal estabilidad mejorada con respecto al estrés, la cual es difícilmente evitable en la práctica clínica, hace al constructo de anticuerpo más seguro debido que se producirán menos productos de degradación en la práctica clínica. En consecuencia, dicha estabilidad aumentada significa seguridad aumentada.

[228] Una forma de realización provee el constructo de anticuerpo de la invención o el constructo de anticuerpo producido de acuerdo con el proceso de la invención para uso en la prevención, tratamiento o mejora de un cáncer que se correlaciona con la expresión de PSMA o la sobreexpresión de PSMA, tal como cáncer de próstata.

[229] Las formulaciones descritas en la presente son útiles como composiciones farmacéuticas en el tratamiento, mejora y/o prevención de la condición médica patológica como se describe en la presente en un paciente que así lo necesita. El término “tratamiento” se refiere tanto a tratamiento terapéutico como a medidas profilácticas o preventivas. Tratamiento incluye la aplicación o administración de la formulación al organismo, un tejido aislado, o célula de un paciente que tiene una enfermedad/trastorno, un síntoma de una enfermedad/trastorno, o una predisposición hacia una enfermedad/trastorno, con el objetivo de curar, sanar, aliviar, atenuar, alterar, remediar, mejorar, reparar, o afectar la enfermedad, el síntoma de la enfermedad o la predisposición hacia la enfermedad.

[230] El término “mejora” como se utiliza en la presente se refiere a cualquier mejora del estado de enfermedad de un paciente que tiene una enfermedad como se especifica en la presente a continuación, mediante la administración de un constructo de anticuerpo de acuerdo con la invención a un sujeto que así lo necesita. Dicha mejora también puede verse como un aletargamiento o detención en la progresión de la enfermedad del paciente. El término “prevención” como se utiliza en la presente, significa la anulación de la ocurrencia o re-ocurrencia de que un paciente tenga un tumor o un cáncer o un cáncer metastásico como se especifica en la presente a continuación, mediante la administración de un constructo de anticuerpo de acuerdo con la invención a un sujeto que así lo necesita.

[231] El término “enfermedad” se refiere a cualquier condición que podría beneficiarse del tratamiento con el constructo de anticuerpo o la composición farmacéutica, descritos en la presente. Esto incluye trastornos o enfermedades crónicos y agudos, que incluyen aquellas condiciones patológicas que predisponen al mamífero a la enfermedad en cuestión.

5 **[232]** Un “neoplasma” es un crecimiento anormal de tejido, que normalmente, pero no siempre, forma una masa. Cuando también forma una masa, se refiere a éste comúnmente como un “tumor”. Los neoplasmas o tumores pueden ser benignos, potencialmente malignos (pre-cancerosos), o malignos. Los neoplasmas malignos se denominan comúnmente cáncer. Estos normalmente invaden y destruyen el tejido circundante y pueden formar metástasis, es
10 decir, pueden diseminarse a otras partes, tejidos u órganos del cuerpo. Por lo tanto, la expresión “cáncer metastásico” abarca metástasis a otros tejidos u órganos diferentes del tumor original. Los linfomas y las leucemias son neoplasmas linfoides. A los fines de la presente invención, estos también están comprendidos por los términos “tumor” o “cáncer”.

[233] La expresión “enfermedad viral” describe enfermedades, las cuales son el resultado
15 de una infección viral de un sujeto.

[234] La expresión “trastorno inmunológico” como se utiliza en la presente describe en línea con la definición común de esta expresión, trastornos inmunológicos tales como enfermedades autoinmunes, hipersensibilidades, deficiencias inmunes.

[235] En una forma de realización, la invención provee un método para el tratamiento o
20 mejora de un cáncer correlacionado con la expresión de PSMA o sobreexpresión de PSMA, comprendiendo la etapa de administrar a un sujeto en necesidad del mismo el constructo de anticuerpo de la invención, o el constructo de anticuerpo producido de acuerdo con el proceso de la invención. El anticuerpo biespecífico de cadena única PSMAxCD3 es particularmente ventajoso para la terapia de cáncer, preferiblemente tumores sólidos, más preferiblemente
25 carcinomas y cáncer de próstata.

[236] Las expresiones “sujeto que lo necesita” o aquellos “que necesitan tratamiento” incluyen aquellos que ya tienen el trastorno, así como también aquellos en los cuales el trastorno será prevenido. El sujeto que lo necesita o “paciente” incluye sujetos humanos y otros mamíferos que reciben tratamiento ya sea profiláctico o terapéutico.

30 **[237]** El constructo de anticuerpo de la invención generalmente será diseñado para rutas y métodos específicos de administración, para dosificaciones y frecuencias específicas de administración, para tratamientos específicos de enfermedades específicas, con rangos de bio-disponibilidad y persistencia, entre otras cosas. Los materiales de la composición están

preferiblemente formulados en concentraciones que son aceptables para el sitio de administración.

[238] Las formulaciones y composiciones por lo tanto pueden ser diseñadas de acuerdo con la invención para el suministro mediante cualquier ruta de administración adecuada. En el

contexto de la presente invención, las rutas de administración incluyen, pero no se limitan a,

- rutas tópicas (tales como epicutánea, por inhalación, nasal, oftálmica, auricular/aural, vaginal, mucosal);
- rutas entéricas (tales como oral, gastrointestinal, sublingual, sublabial, bucal, rectal); y
- rutas parenterales (tales como intravenosa, intraarterial, intraósea, intramuscular, intracerebral, intracerebroventricular, epidural, intratecal, subcutánea, intraperitoneal, extra-amniótica, intraarticular, intracardíaca, intradérmica, intralesional, intrauterina, intravesical, intravital, transdérmica, intranasal, transmucosal, intrasinoval, intraluminal).

[239] Las composiciones farmacéuticas y el constructo de anticuerpo de esta invención son

particularmente útiles para administración parenteral, por ej., suministro subcutáneo o intravenoso, por ejemplo mediante inyección tal como inyección en bolo, o mediante infusión tal como infusión continua. Las composiciones farmacéuticas pueden ser administradas utilizando un dispositivo médico. Ejemplos de dispositivos médicos para suministrar composiciones farmacéuticas se describen en las Patentes US 4.475.196; US 4.439.196; US 4.447.224; US 4.447.233; US 4.486.194; US 4.487.603; US 4.596.556; US 4.790.824; US 4.941.880; US 5.064.413; US 5.312.335; US 5.312.335; US 5.383.851; y US 5.399.163.

[240] En particular, la presente invención provee una administración ininterrumpida de la composición adecuada. A modo de ejemplo no limitante, la administración ininterrumpida o sustancialmente ininterrumpida, es decir, continua, puede ser efectuada mediante un pequeño

sistema de bombeo utilizado por el paciente para medir el flujo entrante de agente terapéutico dentro del cuerpo del paciente. La composición farmacéutica que comprende el constructo de anticuerpo de la invención puede ser administrada utilizando dichos sistemas de bombeo. Dichos sistemas de bombeo son generalmente conocidos en el arte, y comúnmente se basan en el intercambio periódico de cartuchos que contienen el agente terapéutico a ser infundido. Cuando se intercambia el cartucho en dicho sistema de bombeo, puede suceder una interrupción temporaria del flujo, de otro modo ininterrumpido, de agente terapéutico dentro del cuerpo del paciente. En dicho caso, la fase de administración previa al reemplazo de cartucho y la fase de administración luego del reemplazo de cartucho aún sería considerada dentro del significado de los medios farmacéuticos y métodos de la invención en conjunto, como una “administración ininterrumpida” de dicho agente terapéutico.

[241] La administración continua o ininterrumpida de los constructos de anticuerpo de la invención puede ser intravenosa o subcutánea por medio de un dispositivo de suministro de fluidos o sistema pequeño de bombeo que incluye un mecanismo para direccionamiento de fluido para dirigir el fluido hacia afuera de un reservorio y un mecanismo accionador para accionar sobre el mecanismo para direccionamiento. Los sistemas de bombeo para administración subcutánea pueden incluir una aguja o una cánula para penetrar la piel de un paciente y suministrar la composición adecuada dentro del cuerpo del paciente. Dichos sistemas de bombeo puede estar fijados o anexados directamente a la piel del paciente independientemente de una vena, arteria o vaso sanguíneo, permitiendo así un contacto directo entre el sistema de bombeo y la piel del paciente. El sistema de bombeo puede estar anexado a la piel del paciente durante 24 horas hasta varios días. El sistema de bombeo puede ser de tamaño pequeño con un reservorio para volúmenes pequeños. A modo de ejemplo no limitante, el volumen del reservorio para la composición farmacéutica adecuada a ser administrada puede ser de entre 0,1 y 50 ml.

[242] La administración continua también puede ser transdérmica por medio de un parche llevado sobre la piel y reemplazado a intervalos. Un experto en el arte conocerá de sistemas de parche para suministro de drogas adecuados para este fin. Se deberá notar que la administración transdérmica es especialmente apropiada para la administración ininterrumpida, dado que el intercambio de un primer parche agotado puede llevarse a cabo ventajosamente simultáneamente con el reemplazo de un segundo, nuevo, parche, por ejemplo sobre la superficie de la piel inmediatamente adyacente al primer parche agotado e inmediatamente previo a la remoción del primer parche agotado. No surgen problemas por interrupción de flujo o falla de batería.

[243] Si la composición farmacéutica ha sido liofilizada, el material liofilizado es primero reconstituido en un líquido apropiado previo a la administración. El material liofilizado puede ser reconstituido por ej., en agua para inyección bacteriostática (BWFI, por sus siglas en inglés), solución salina fisiológica, solución salina tamponada con fosfato (PBS, por sus siglas en inglés), o la misma formulación en la cual estaba la proteína previamente a la liofilización.

[244] Las composiciones de la presente invención pueden ser administradas al sujeto a una dosis adecuada que puede ser determinada, por ej., mediante estudios de escalado de dosis mediante administración de dosis crecientes del constructo de anticuerpo de la invención que exhiben especificidad cruzada de especies descrito en la presente a primates no chimpancés, por ejemplo macacos. Como se establece anteriormente, el constructo de anticuerpo de la invención, que exhibe especificidad cruzada de especies, descrito en la presente, puede ser utilizado ventajosamente de forma idéntica en evaluación pre-clínica en

primates no chimpancés y como droga en humanos. El régimen de dosificación será determinado por el médico a cargo y los factores clínicos. Tal como es bien conocido en las artes médicas, las dosificaciones para un paciente cualquiera dependen de muchos factores, incluyendo el tamaño del paciente, área superficial corporal, edad, el compuesto en particular a ser administrado, sexo, tiempo y ruta de administración, estado de salud general y otras drogas que estén siendo administradas simultáneamente.

[245] La expresión “dosis efectiva” o “dosificación efectiva” está definida como una cantidad suficiente para lograr o al menos parcialmente lograr el efecto deseado. La expresión “dosis terapéuticamente efectiva” está definida como una cantidad suficiente para curar o al menos interrumpir parcialmente la enfermedad y sus complicaciones en un paciente que ya está sufriendo de la enfermedad. Las cantidades o dosis efectivas para este uso dependerán de la condición a ser tratada (la indicación), el constructo de anticuerpo suministrado, el contexto terapéutico y los objetivos, la severidad de la enfermedad, terapia previa, la historia clínica del paciente y la respuesta al agente terapéutico, la ruta de administración, el tamaño (peso corporal, superficie corporal o tamaño de órganos) y/o condición (la edad y el estado de salud general) del paciente, y el estado general del sistema inmune propio del paciente. La dosis apropiada puede ajustarse de acuerdo con el juicio del médico a cargo, de modo que puede ser administrada al paciente una vez o durante una serie de administraciones, y a fin de obtener el efecto terapéutico óptimo.

[246] Una dosificación típica puede estar en el rango de desde aproximadamente 0,1 µg/kg hasta aproximadamente 30 mg/kg o más, dependiendo de los factores mencionados anteriormente. En formas de realización específicas, la dosificación puede estar en el rango de desde 1,0 µg/kg hasta aproximadamente 20 mg/kg, opcionalmente desde 10 µg/kg hasta aproximadamente 10 mg/kg o desde 100 µg/kg hasta aproximadamente 5 mg/kg.

[247] Una cantidad terapéutica efectiva de un constructo de anticuerpo de la invención preferiblemente resulta en una disminución en la severidad de los síntomas de la enfermedad, un incremento en la frecuencia o duración de los períodos libres de síntomas de la enfermedad o una prevención de los impedimentos o discapacidades debidas a la aflicción de la enfermedad. Para tratar enfermedades correlacionadas con expresión de PSMA como se describe en la presente más arriba, una cantidad terapéuticamente efectiva del constructo de anticuerpo de la invención, aquí: un constructo de anticuerpo anti-PSMA/anti-CD3, preferiblemente inhibe el crecimiento celular o el crecimiento de tumor en al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 40%, al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 80%, o al menos aproximadamente 90% en relación con pacientes no

tratados. La capacidad de un compuesto de inhibir el crecimiento de tumor puede evaluarse en un modelo animal predictivo de la eficacia.

[248] La composición farmacéutica puede ser administrada como un único agente terapéutico o en combinación con terapias adicionales tales como terapias anti-cáncer como sea necesario, por ej., otras drogas proteicas y no proteicas. Estas drogas pueden ser administradas simultáneamente con la composición que comprende el constructo de anticuerpo de la invención como se define en la presente, o separadamente antes o después de la administración de dicho constructo de anticuerpo en intervalos de tiempo y a dosis definidas.

[249] La expresión “dosis efectiva y no tóxica” como se utiliza en la presente se refiere a una dosis tolerable de un constructo de anticuerpo de la invención que es suficientemente alta para causar agotamiento de células patológicas, eliminación de tumores, encogimiento de tumores o estabilización de la enfermedad, sin, o esencialmente sin, efectos tóxicos mayores. Dichas dosis efectivas y no tóxicas pueden determinarse, por ej., mediante estudios de escalado de dosis descritos en el arte y deberían estar por debajo de la dosis que induce eventos secundarios adversos severos (toxicidad limitante de la dosis, DLT por sus siglas en inglés).

[250] El término “toxicidad” como se utiliza en la presente se refiere a los efectos tóxicos de una droga manifestados en eventos adversos o eventos adversos severos. Estos eventos secundarios podrían referirse a una falta de tolerancia de la droga en general y/o a una falta de tolerancia local luego de la administración. La toxicidad también podría incluir efectos teratogénicos o carcinogénicos causados por la droga.

[251] Los términos “seguridad”, “seguridad *in vivo*” o “tolerancia” como se utilizan en la presente, definen la administración de una droga sin inducir eventos adversos severos directamente luego de la administración (tolerancia local) y durante un período prolongado de aplicación de la droga. “Seguridad”, “seguridad *in vivo*” o “tolerancia” pueden evaluarse, por ej., a intervalos regulares durante el tratamiento y el período de seguimiento. Las mediciones incluyen evaluación clínica, por ej., manifestaciones orgánicas, y monitoreo de anormalidades de laboratorio. Se puede llevar a cabo la evaluación clínica y se pueden registrar/codificar los hallazgos de desviaciones a lo normal de acuerdo con estándares NCI-CTC y/o MedDRA. Las manifestaciones orgánicas pueden incluir criterios tales como alergia/inmunología, sangre/médula ósea, arritmia cardíaca, coagulación y lo similar, como se establece, por ej., en los Criterios Comunes de Terminología para Eventos Adversos v3.0 (CTCAE, por sus siglas en inglés). Los parámetros de laboratorio que pueden ser evaluados incluyen por ejemplo hematología, química clínica, perfil de coagulación y análisis de orina y examen de

otros fluidos corporales tales como suero, plasma, fluido linfático o espinal, líquido cefalorraquídeo y lo similar. La seguridad también por lo tanto puede evaluarse por ej., mediante examen físico, técnicas de imágenes (es decir, ultrasonido, rayos-x, barridos CT, Imágenes de Resonancia Magnética (MRI, por sus siglas en inglés), otras mediciones con dispositivos técnicos (es decir, electrocardiograma), signos vitales, mediante medición de parámetros de laboratorio y registrando eventos adversos. Por ejemplo, los eventos adversos en los primates no chimpancé en los usos y métodos de acuerdo con la invención pueden examinarse mediante métodos histopatológicos y/o histoquímicos.

[252] Los términos anteriores también son referidos, por ej., en la evaluación de Seguridad preclínica de los agentes farmacéuticos derivados de biotecnología S6; Directrices Tripartitas Armonizadas ICH; Reunión de Comité Directivo ICH del 16 de julio de 1997.

[253] Finalmente, la invención provee un kit que comprende un constructo de anticuerpo de la invención, o producido de acuerdo con el procedimiento de la invención, una composición farmacéutica de la invención, un polinucleótido de la invención, un vector de la invención, y/o una célula hospedante de la invención.

[254] En el contexto de la presente invención, el término “kit” significa dos o más componentes – uno de los cuales corresponde al constructo de anticuerpo, la composición farmacéutica, el vector o la célula hospedante de la invención – envasados juntos en un contenedor, recipiente o de otro modo. Un kit puede por lo tanto, describirse como un conjunto de productos y/o utensilios que son suficientes para alcanzar un determinado objetivo, el cual puede ser comercializado como una única unidad.

[255] El kit puede comprender uno o más recipientes (tales como viales, ampollas, contenedores, jeringas, botellas, bolsas) de cualquier forma, tamaño y material apropiados (preferiblemente a prueba de agua, por ej., plástico o vidrio) que contienen el constructo de anticuerpo o la composición farmacéutica de la presente invención en una dosificación apropiada para administración (ver más arriba). El kit puede además contener instrucciones para su uso (por ej., en la forma de un folleto o manual de instrucciones), medios para administrar el constructo de anticuerpo de la presente invención, tales como una jeringa, bomba, infusor o lo similar, medios para reconstituir el constructo de anticuerpo de la invención y/o medios para diluir el constructo de anticuerpo de la invención.

[256] La invención también provee kits para una unidad de administración de dosis única. El kit de la invención también puede contener un primer recipiente que comprende un constructo de anticuerpo seco/liofilizado y un segundo recipiente que comprende una formulación acuosa. En ciertas formas de realización de esta invención, se proveen los kits que contienen

jeringas pre-llenadas de única cámara y multi-cámaras (por ej., jeringas de líquido y lio-jeringas).

- 5 **[257]** Se debe hacer notar que, tal como se utiliza en la presente, las formas en singular “un”, “una”, y “el/la” incluyen las referencias al plural a menos que el contexto lo indique claramente de otro modo. Así, por ejemplo, la referencia a “un reactivo” incluye uno o más de dichos reactivos diferentes y la referencia a “el método” incluye la referencia a etapas y métodos equivalentes, conocidos por aquellos con conocimientos medios en el arte, que podrían ser modificados o sustituidos por los métodos descritos en la presente.
- 10 **[258]** A menos que se indique de otro modo, la expresión “al menos” precediendo una serie de elementos debe entenderse como refiriéndose a cada elemento en la serie. Aquellos expertos en el arte reconocerán, o serán capaces de inferir, utilizando no más que experimentación de rutina, muchos equivalentes a las formas de realización específicas de la invención, descritas en la presente. Se contempla que dichos equivalentes estén abarcados
- 15 por la presente invención.
- [259]** El término “y/o” siempre que se utiliza en la presente incluye el significado de “y”, “o” y “todos o cualquier otra combinación de los elementos conectados por dicho término”.
- [260]** El término “alrededor” o “aproximadamente” como se utiliza en la presente significa dentro de 20%, preferiblemente dentro de 10%, y más preferiblemente dentro de 5% de un
- 20 valor o rango dados. Incluye, sin embargo, también un número concreto, por ej. aproximadamente 20 incluye 20.
- [261]** La expresión “menor que” o “mayor que” incluyen el número concreto. Por ejemplo, menor que 20 significa menos que o igual a. De manera similar, más de o mayor que significa más de o igual a, o mayor que o igual a, respectivamente.
- 25 **[262]** A lo largo de esta descripción y de las reivindicaciones que le siguen, a menos que el contexto lo requiera de otro modo, la palabra “comprende”, y variaciones tales como “comprenden” y “que comprende”, serán entendidas como implicando la inclusión de un entero o etapa o grupo de enteros o etapas establecido, pero no la exclusión de cualquier otro entero o etapa o grupo de enteros o etapas. Como se utiliza en la presente, la expresión “que
- 30 comprende” puede ser sustituida con la expresión “que contiene” o “que incluye” o a veces cuando se la utiliza en la presente, con la expresión “que tiene”.
- [263]** Cuando se utiliza en la presente “que consiste en” excluye cualquier elemento, etapa o ingrediente no especificado en los elementos de la reivindicación. Cuando se utiliza en la

presente, “que consiste esencialmente en” no excluye materiales o etapas que no afectan materialmente las características básicas y novedosas de la reivindicación.

[264] En cada instancia de la presente, cualquiera de las expresiones “que comprende”, “que consiste esencialmente en” y “que consiste en” pueden ser reemplazadas con cualquiera de las otras dos expresiones.

[265] Debe entenderse que esta invención no está limitada a la metodología, protocolos, material, reactivos y sustancias, etc. particulares descritos en la presente y como tales pueden variar. La terminología utilizada en la presente es con propósitos de describir formas de realización particulares solamente, y no está destinada a limitar el alcance de la presente invención, el cual está definido solamente por las reivindicaciones.

[266] Todas las publicaciones y patentes citadas a lo largo del texto de esta descripción (incluyendo todas las patentes, solicitudes de patente, publicaciones científicas, especificaciones de fabricantes, instrucciones, etc.) más arriba o más adelante, están de este modo incorporadas como referencia en su totalidad. Nada en la presente debe interpretarse como una admisión de que la invención no está habilitada para anteceder dicha descripción en virtud de invención previa. Hasta el grado en que el material incorporado como referencia contradice o es inconsistente con esta descripción, la descripción sustituye cualquiera de dichos materiales.

[267] Una mejor comprensión de la presente invención y de sus ventajas será obtenida de los siguientes ejemplos, ofrecidos con propósitos ilustrativos solamente. Los ejemplos no están destinados a limitar el alcance de la presente invención de ninguna manera.

[268] Ejemplo 1: Expresión de CD69 Inducida por BiTE® en Células T en Ausencia de Células Diana

PBMC aisladas de dadores humanos sanos fueron cultivadas con crecientes constructos de anticuerpo biespecíficos HLE para Diana B/CD3 o Diana A/CD3 durante 48 h. La expresión del marcador de activación CD69 en células T fue determinada mediante inmunoteñido y citometría de flujo y conjugados mAb específicos para antígeno.

Se observó la activación de células T independiente de diana en términos de regulación positiva de CD69 para todos los 19 constructos anti-CDH pero fue lo más pronunciado para moléculas heteroFc y anticuerpos cruzados (*crossbodies*). La regulación positiva de CD69 mediante scFc anti-Diana B ocurrió a mayores concentraciones y la amplitud fue en parte menor comparada con los otros dos constructos basados en Fc.

Para el anti-Diana A casi no se observó activación de células T independiente de diana para la molécula que contenía scFc, mientras que el constructo heteroFc indujo una fuerte regulación positiva de CD69 en la superficie celular de células T en ausencia de células diana.

Se evaluó la activación de células T independiente de diana inducida por constructos de anticuerpo BiTE® que contenían una Fc de cadena simple, o la fusión hetero-Fc en el extremo C terminal, para los siguientes constructos:

Constructos de anticuerpo BiTE® (diluciones seriales: 0,1 pM – 2 µM)

a. I2C de scFc para Diana A; 1,14 mg/ml;

b. Hetero Fc para Diana A; 1,02 mg/

- 10 Células efectoras PBMC humanas (3 dadores; #065, #823, #836 (scFc) #401, #415, #433 (heteroFc); #590, #595, 598, #605 (*X-body*, anticuerpo cruzado)).

Tiempo de incubación 48 h.

Determinación de la expresión de CD69 en células T CD4+ y CD8+ con citometría de flujo y conjugados mAb específicos para antígeno. Ver resultados en Figura 2.

- 15 Se evaluó la activación de células T independiente de diana inducida por constructos de anticuerpo BiTE® que contenían una Fc de cadena simple, hetero-Fc o fusión de anticuerpo cruzado en el extremo C terminal, para los siguientes constructos:

Constructos de anticuerpo BiTE® (diluciones seriales: 0,1 pM – 2 µM)

c. I2C de scFc para Diana B; 245,3 µg/ml (

- 20 d. Hetero Fc para Diana B; 1 mg/ml

e. Anticuerpo cruzado para Diana B (*crossbody*); 6,3 mg/ml

Células efectoras PBMC humanas (3 a 4 dadores; #386, #392, #401 (scFc) #282, #284, #287 (heteroFc)).

Tiempo de incubación 48 h.

- 25 Determinación de la expresión de CD69 en células T CD4+ y CD8+ con citometría de flujo y conjugados mAb específicos para antígeno. Ver resultados en Figura 3.

La activación de células T independiente de diana en términos de regulación positiva de CD69 fue observada para varios constructos de anticuerpo biespecíficos ensayados en estos ensayos. La regulación positiva de CD69 fue en general más pronunciada para los constructos de anticuerpo BiTE® canónicos, y constructos de anticuerpo hetero Fc y *crossbody* cuando se comparan con los respectivos constructos de anticuerpo scFc. La regulación positiva de CD69 por los constructos scFc tuvo lugar en general a concentraciones

levemente superiores y la amplitud fue más baja en parte comparada con otros dos constructos basados en Fc.

Para el constructo de anticuerpo scFc anti-Diana B, no se observó activación de células T independiente de diana, mientras que los constructos de anticuerpo hetero-Fc y *crossbody* indujeron una regulación positiva fuerte de CD69 sobre la superficie celular de las células T en ausencia de células diana. En consecuencia, el constructo de anticuerpo scFc de acuerdo con la presente invención muestra una ventaja ya que la activación de células T no específica, como se ejemplifica en la presente mediante regulación positiva de CD69, no es deseada en inmunoterapia específica.

10 Materiales y métodos

Diana B

Activación de células T independiente de diana inducida mediante constructos de anticuerpo BiTE® que contienen una Fc de cadena única para el siguiente constructo:

1. Constructo de anticuerpo BiTE® (diluciones seriales: 1,3 pM – 20 nM)
1. scFc para Diana B
2. Células efectoras PBMC humanas (3 donadores)
3. Tiempo de incubación 48 h
4. Análisis de espectrometría de flujo de la expresión de CD69 en células T CD4+ y CD8+ T utilizando un mAb conjugado PE-Cy7 específico para CD69.

[269] Ejemplo 2:

Se recubrió una placa Maxisorb con constructos de anticuerpo BiTE® purificados en concentración decreciente (100 nM, diluciones 1:4). Después de lavados 3x con PBS-T y bloqueo con PBS/BSA 3% (p/v) (60 min, 37°C), se incubó plasma humano combinado (*pooled*) durante 60 min, 80 rpm a temperatura ambiente. Después de lavados 3x se agregó un anticuerpo monoclonal de ratón específico para la subunidad A de C1q humana (CC1q) (Thermo MA1-83963, 1:500) durante 60 min, 80 rpm, temperatura ambiente, después de las etapas de lavado descritas, se incubó un mAb POX de cabra anti-Fc de ratón (1:5.000) durante 60 min, 80 rpm, temperatura ambiente. Después de lavado adicional, se incubó sustrato TMB y se detuvo después de reacción colorimétrica mediante adición de H₂SO₄. Se determinó la absorción a 450 nm.

Resultado: como se muestra en la Figura 4 a elevadas concentraciones, el constructo de anticuerpo hetero Fc BiTE® (cuadrados) mostró mayores señales de unión para CC1q

humana comparado con un constructo de anticuerpo Fc de cadena simple BiTE® (triángulo). Como control negativo se utilizó un constructo de anticuerpo BiTE® canónico (círculo), el cual no mostró unión significativa a CC1q.

[270] Ejemplo 3: Farmacocinética de los constructos de anticuerpo BiTE® fusionados a modalidades de extensión de vida media

Dos constructos de anticuerpo BiTE® con diana en PSMA fueron ensayados en el mono cinomólogo en el contexto de estudios farmacocinéticos (PK). Un constructo de anticuerpo BiTE® fue fusionado a una fracción molecular extendedora de vida media (HLE) de scFc mientras que el otro fue utilizado como constructo simple de anticuerpo BiTE® “canónico” sin vida media extendida (no-HLE). La correspondiente nomenclatura de ambas moléculas se resume brevemente en la Tabla 4 a continuación.

Tabla 4 Nomenclatura de compuestos de dos constructos de anticuerpo BiTE® de dosis simple

sinónimo de compuesto	nombre del compuesto de ensayo	diana
Compuesto 11a	PM 76-B10-scFc	PSMA
Compuesto 11b	MTR112-5	

El constructo de anticuerpo BiTE®-HLE (compuesto 11a) fue administrado como una inyección breve de bolo endovenosa, el constructo de anticuerpo canónico como una infusión endovenosa continua (compuesto 11b). Para comparar los parámetros farmacocinéticos de ambos constructos de anticuerpo, solamente se muestra la fase terminal que comienza directamente después del final de la infusión para el constructo de anticuerpo BiTE® canónico para PSMA. Los constructos de anticuerpo BiTE® fueron administrados en un rango relevante farmacocinético lineal en dosis de 15 µg/kg (compuesto 11a) y 15,4 µg/kg/día (compuesto 11b), respectivamente. Con motivo de comparación, las concentraciones en suero mostradas están normalizadas por dosis y normalizadas por peso molecular (indicado en nmol)

Para cada uno de los compuestos anteriormente mencionados se utilizó un grupo de dos animales. Se recolectaron muestras de sangre y el suero fue preparado para determinación de concentraciones en suero. Los niveles de constructo de anticuerpo BiTE® en suero fueron medidos utilizando un inmunoensayo. Este ensayo ELISA tipo sándwich fue realizado mediante la captura vía un anticuerpo específico con diana en BiTE®, mientras que se utilizó para la detección un anticuerpo dirigido contra la parte del constructo que se une a CD3. Los

perfiles de concentración en suero-tiempo fueron utilizados para determinar los parámetros PK.

Los puntos de tiempo de muestreo de sangre están listados para ambos diseños de estudio en la Tabla 5 a continuación.

5

Tabla 5 Puntos de tiempo de muestreo de sangre durante los estudios PK

puntos de tiempo de muestreo de sangre: constructo anticuerpo HLE; [h] después de inicio de infusión	puntos de tiempo de muestreo de sangre: constructo anticuerpo canónico; [h] después de inicio de infusión
0,085	167,76
0,25	168,96
0,5	172,08
1	175,92
4	180,00
8	192,00
24	
48	
72	
168	
240	
336	

La farmacocinética de los dos constructos de anticuerpo BiTE® se muestran a modo de ejemplo. Cada grupo de compuestos representa el mismo constructo de anticuerpo BiTE® ya sea fusionado a una fracción molecular que extiende la vida media de scFc o dejado como molécula canónica. Para todas las proteínas, los niveles en suero fueron cuantificables para todos los puntos de tiempo en todos los animales luego de la administración del constructo de anticuerpo BiTE®-HLE. **(Figura 5).**

Los parámetros farmacocinéticos fueron determinados utilizando métodos de análisis no compartimental (NCA, por su sigla en inglés). Utilizando el análisis no compartimental, se estimaron los siguientes parámetros PK: AUCinf (Área bajo la curva de concentración en suero vs tiempo), Vss (volumen de distribución en estado estacionario), CL (eliminación sistémica) y $t_{1/2}$ terminal (vida media terminal).

El parámetro PK para cada compuesto ensayado se resume como media de n=2 en la Tabla 6 a continuación.

Tabla 6 Parámetro farmacocinético de dos constructos de anticuerpo BiTE® con diana en PSMA ensayados en monos cinomólogos.

Ítem de ensayo	$t_{1/2}$ terminal [h]	AUC_{inf} [normalizada a 15 µg/kg] [h*ng/mL]	Cl [mL/h/kg]	Vss [mL/kg]
Compuesto 11a	214	43014	0,4	98
Compuesto 11b	6	7763	13,5	1132

Típicamente, el perfil PK para los constructos de anticuerpo BiTE® canónico para PSMA describe un perfil de concentración en suero muy empinadamente declinante en relación con el mecanismo de eliminación (clearance) de estas proteínas canónicas. El constructo de anticuerpo BiTE®-scFc con diana en PSMA con vida media extendida muestra una declinación exponencial bifásica después de administraciones de un único ítem de ensayo en monos cinomólogos.

Globalmente, el constructo de anticuerpo BiTE® para PSMA (Compuesto 11a) fusionado a una modalidad HLE de scFc muestra una AUC_{inf} media de 43014 h*ng/mL, un valor de eliminación sistémico (clearance) de 0,4 mL/h/kg, así como un volumen de distribución correspondiente de 98 mL/kg. El compuesto 11b, el canónico, es decir el constructo de anticuerpo BiTE® con diana en PSMA sin vida media extendida muestra una elevada eliminación (clearance) de 13,5 mL/h/kg conduciendo a una baja exposición en suero de 7763 h*ng/L.

Las diferencias en el comportamiento farmacocinético de los dos constructos de anticuerpo BiTE® ensayados ejemplifican la ventaja general del constructo de anticuerpo BiTE®-scFc con diana en PSMA con vida media extendida frente a la correspondiente versión canónica no HLE, especialmente en términos de tiempo de residencia de la sustancia en el cuerpo.

[271] Ejemplo 4:

Las sustancias de droga preformuladas, conteniendo respectivamente constructos de anticuerpo purificados hALB para Diana A, hFc para Diana A, y scFc para Diana A, fueron intercambiadas con buffer mediante ultrafiltración/diafiltración utilizando membranas con un corte de peso molecular (MWCO, por su sigla en inglés) de 10 kDa. La formulación final se logró mediante agregado de las soluciones stock concentradas. Las formulaciones resultantes para cada constructo están listadas en la Tabla 7. La concentración de proteína diana fue de 1,0 mg/ml. Se llenaron viales de vidrio Tipo I hasta 1 ml con constructos formulados de anticuerpo para Diana A, los cuales fueron tapados con tapones de caucho de butilo y retenidos con sellos de aluminio. Los viales llenados fueron incubados a -20, 5, 25 y 37°C. Un vial de cada versión fue sometido a cinco ciclos de congelamiento y

descongelamiento (F/T, por sus siglas en inglés). La temperatura de congelamiento de la diana fue de -29°C. La temperatura de descongelamiento de la diana fue de 2°C. La tasa fue de aproximadamente 0,3 K/min.

Se evaluaron las partículas visibles de acuerdo con el método descrito por la Farmacopea Europea 2.9.20 por parte de operarios entrenados. En la Tabla 7 se muestran los conteos de partículas visibles por vial. El número de partículas proteicas visibles (más grandes que 125 µm) fue más alto para hFc para Diana A si se lo compara tanto con hALB para Diana A como con scFc para Diana A.

Tabla 7: Número de partículas proteicas visibles por vial para muestras estresadas y no estresadas (T0) conteniendo diferentes constructos de anticuerpos BiTE® anti-Diana A de vida media extendida.

Constructo	hALB	hFc		scFc	
Formulación	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
Número de partículas proteicas visibles (>125 µm) por vial					
T0	0	0	1	0	0
5 ciclos F/T	0	2	2	0	1
2s 5°C	0	2	2	0	0
2s 25°C	0	2	1	0	0
2s 37°C	0	2	2	0	0
4s -20°C	0	2	1	0	0
4s 5°C	0	1	2	0	0
4s 25°C	0	2	2	0	0
4s 37°C	0	2	2	0	0

Las muestras descritas anteriormente también fueron analizadas mediante cromatografía de exclusión por tamaño de ultra-alto desempeño (SE-UPLC, por sus siglas en inglés) a fin de cuantificar el contenido porcentual de especies de alto peso molecular (HMWS, por sus siglas en inglés). Se llevó a cabo la SE-UPLC en un sistema UPLC AcquityH-Class (Waters) utilizando una columna de 150 mm Acquity UPLC BEH200 SEC (Waters). La temperatura de la columna se configuró en 25°C. La separación de las variantes por tamaño se logró aplicando un método isocrático con un caudal de 0,4 ml/min. La fase móvil estuvo compuesta por fosfato de sodio 100 mM, NaCl 250 mM a pH 6,8. El tiempo de corrida totalizó 6,0 minutos. Las muestras fueron mantenidas a 8°C dentro del muestreador automático hasta su análisis. Se inyectó una cantidad total de 3 µg de proteína. A fin de evitar el arrastre, se llevó a cabo una inyección intermedia con acetonitrilo al 40% luego de cada muestra. La detección fue basada en la emisión de fluorescencia (excitación a 280 nm, emisión a 325 nm). La integración de pico fue llevada a cabo utilizando el programa Empower®. Se reportó el área relativa bajo la curva de HMWS (Tabla 8).

Los constructos de anticuerpo basados en Fc exhibieron contenidos más bajos de HMWS en la variante de formulación G40MSuT que en K60RTrT, independientemente de la condición de estrés. Fue evidente que el scFc para Diana A contenía menos HMWS que el hFc para Diana A en ambas preparaciones, tanto G40MSuT como K60RTrT. El scFc para Diana A en su formulación preferida (G40MSuT) fue menos propenso a la formación de HMWS que el hALB para Diana A formulado en K60RTrT. En experimentos previos, este buffer mostró un potencial estabilizante mejorado para los constructos basados en hALB.

Tabla 8: Resumen de los contenidos de HMWS en preparaciones de constructos de anticuerpo hALB, hFc, y scFc para Diana A estresadas y no estresadas (T0), determinados mediante SE-UPLC

Constructo	hALB	hFc		scFc	
Formulación	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%HMWS					
T0	1,8	6,7	3,3	2,5	1,3
5 ciclos F/T	2,0	7,2	4,1	3,0	1,5
2s 5°C	n.e.	n.e.	n.e.	2,9	1,1
2s 25°C	n.e.	6,6	2,7	2,4	0,5
2s 37°C	2,6	6,3	2,1	2,7	0,3
4s -20°C	5,9	8,7	1,6	6,6	0,3
4s 5°C	2,0	8,2	2,8	3,6	0,6
4s 25°C	2,2	6,8	2,6	2,7	0,4
4s 37°C	3,5	7,6	1,9	4,3	0,3

n.e. = no ensayado

La abundancia de las modificaciones químicas debidas al estrés por calor (incubación a 37°C) fue monitoreada por mapeo de péptidos. Las muestras de proteína fueron digeridas enzimáticamente y los péptidos resultantes fueron separados utilizando cromatografía de fase inversa. El eluato de la columna fue directamente inyectado dentro de la fuente de iones de un espectrómetro de masa para identificación y cuantificación de los péptidos.

A fin de alcanzar el cubrimiento máximo, se llevaron a cabo dos digestiones enzimáticas: una vez con tripsina y una vez con quimiotripsina. En cada caso, las proteínas fueron desnaturalizadas con cloruro de guanidinio y luego reducidas con ditioneitol (DTT). Luego de la incubación en DTT, los residuos libres de cisteína fueron alquilados mediante adición de ácido iodoacético. Las muestras fueron luego intercambiadas con buffer en Tris 50 mM de pH 7,8 para digestión. Se agregaron tripsina y quimiotripsina a tubos de reacción separados a una relación de 1:10 (muestra:enzima) cada uno. Las muestras fueron digeridas durante 30 min a 37°C y se detuvo la reacción mediante agregado de ácido trifluoroacético.

Se inyectó de manera separada una carga de 5 µg de cada digerido dentro de una columna de fase inversa Zorbax SB-C18 (Agilent #859700-902) equilibrada en ácido fórmico (AF) 0,1%

(V/V). Se utilizó un gradiente de 156 minutos de hasta 90% de acetonitrilo conteniendo 0,1% de AF para eluir los péptidos directamente dentro de la fuente de iones por *electrospray* de un espectrómetro de masa Q-Exactive Plus (Thermo Scientific). Los datos fueron recolectados en el modo dependiente de datos utilizando un método de 12 superiores en el cual un escaneo completo (resolución 70000; rango de escaneo 200-2000 m/z) fue seguido por disociación por colisión a elevada energía (HCD, por su sigla en inglés) de los 12 iones más abundantes (resolución 17500).

Los péptidos fueron identificados en base a la masa precisa y el espectro de masa en tándem, utilizando un programa propio. Las identificaciones fueron verificadas manualmente. Las cantidades relativas de los péptidos modificados y sin modificar fueron calculadas en base a la abundancia de iones utilizando el programa Pinpoint (Thermo Scientific).

En la Tabla 9 se proveen los porcentajes de las modificaciones químicas de las regiones determinantes de complementariedad (CDRs) y de la porción extendedora de la vida media (ya sea hALB o Fc) detectada en las preparaciones de constructos de anticuerpo hALB, hFc, y scFc para Diana A. Cuando se comparan condiciones de formulación similares, resulta obvio que globalmente, las modificaciones químicas fueron menos abundantes en los constructos scFc.

Tabla 9: Resumen de las modificaciones químicas en las preparaciones de constructos de anticuerpo estresadas y no estresadas (T0) de hALB, hFc, y scFc para Diana A determinadas mediante mapeo de péptidos

Constructo	hALB	hFc		scFc	
Formulación	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
% de desamidación de N101 (CDR)					
T0	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
2s 37°C	0,7	0,8	3,0	0,7	3,2
4s 37°C	1,3	n.e.	8,5	n.e.	6,4
% de desamidación de N162 (CDR)					
T0	3,0	1,7	1,9	2,3	2,5
2s 37°C	15,9	11,6	2,7	15,0	3,3
4s 37°C	26,8	n.e.	3,7	n.e.	4,1
% de oxidación de M279 (CDR)					
T0	0,6	1,4	1,6	0,6	1,0
2s 37°C	1,2	0,8	0,8	0,6	1,0
4s 37°C	0,9	n.e.	0,8	n.e.	0,6
% de desamidación de N348 (CDR)					
T0	0,5	3,2	3,3	0,5	0,9
2s 37°C	20,5	21,6	1,9	9,4	1,3
4s 37°C	22,8	n.e.	2,0	n.e.	2,9
% de desamidación de N351 (CDR)					
T0	0,2	2,9	2,6	0,5	1,0
2s 37°C	6,6	12,7	0,9	3,8	0,4

Constructo	hALB	hFc		scFc	
Formulación	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
4s 37°C	8,7	n.e.	0,8	n.e.	0,8
% de oxidación de M530 (Fc)					
T0	n.a.	3,9	4,1	2,6	3,2
2s 37°C	n.a.	9,0	3,1	4,0	4,3
4s 37°C	n.a.	n.e.	3,4	n.e.	3,5
% de desamidación de N603 (Fc)					
T0	n.a.	1,3	1,9	1,3	1,4
2s 37°C	n.a.	7,9	4,6	7,0	5,6
4s 37°C	n.a.	n.e.	6,9	n.e.	8,1
% de oxidación de M706 (Fc)					
T0	n.a.	3,2	3,6	1,5	2,1
2s 37°C	n.a.	6,0	2,8	2,1	2,5
4s 37°C	n.a.	n.e.	2,6	n.e.	2,0
% de oxidación de M587 (hALB)					
T0	1,0	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
2s 37°C	2,2	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4s 37°C	2,3	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
% de oxidación de M623 (hALB)					
T0	1,9	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
2s 37°C	2,4	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4s 37°C	3,0	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
% de oxidación de M798 (hALB)					
T0	1,4	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
2s 37°C	3,3	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4s 37°C	3,5	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
% de oxidación de M829 (hALB)					
T0	8,9	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
2s 37°C	42,9	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
4s 37°C	44,1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

n.a. = no aplicable; n.e. = no ensayado

[272] Ejemplo 5:

Los constructos de anticuerpo hALB, hFc y scFc para Diana A formulados como se describe en el Ejemplo 4 fueron sometidos a un experimento de salto de pH. La concentración de los materiales de partida fue de 1,0 mg/ml. Se llenó con un volumen de 0,38 ml un vial de vidrio con cada material de partida. Luego de pre-acondicionar a 37°C se añadió a las soluciones 20 veces de solución tamponada de fosfato (PBS) el cual estaba compuesto de fosfato de potasio 0,090 M, fosfato de sodio 0,480 M (ambos dibásicos), cloruro de potasio 0,052 M y NaCl 2,76 M. Las muestras fueron incubadas a 37°C durante dos semanas. Luego de la incubación las mismas fueron analizadas mediante SE-UPLC utilizando el método descrito en el Ejemplo 4 y se reportó el contenido porcentual de HMWS (Tabla 10). Cuando se comparan todos los constructos formulados en K60RTrT el contenido de HMWS aumenta en el siguiente orden: hALB < scFc < hFc. El scFc para Diana A también mostró un contenido de HMWS más bajo que el hFc para Diana A cuando se formula en G40MSuT.

Tabla 10: Resumen de los contenidos de HMWS en preparaciones de constructos de anticuerpo hALB, hFc, y scFc para Diana A estresadas (salto de pH + 2s a 37°C), determinados mediante SE-UPLC

Constructo	hALB	hFc		scFc	
Formulación	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%HMWS					
2s 37°C	1,5	8,3	7,1	5,4	5,1

5 [273] Ejemplo 6:

Los constructos de anticuerpo hALB, hFc, y scFc para Diana A formulados como se describe en el Ejemplo 4 fueron sometidos a estrés por agitación. La concentración de los materiales de partida fue de 1,0 mg/ml. Se filtró un volumen de 0,5 ml de cada solución a través de un filtro apropiado de 0,22 µm y se llenaron viales de vidrio de 3cc. Los viales fueron ubicados en una caja plástica asegurando que los viales no se movieran dentro de la caja durante la agitación. La caja fue ubicada sobre un agitador orbital. Las muestras fueron agitadas a 500 rpm durante 65 horas. Se evaluaron las partículas visibles de acuerdo con el método descrito en la Farmacopea Europea 2.9.20. El método fue llevado a cabo por operarios entrenados. El conteo de las partículas visibles por vial se muestra en la Tabla 11. Las partículas proteicas visibles fueron observadas solamente en las preparaciones de hFc para Diana A.

Tabla 11: Número de partículas proteicas visibles por vial en las muestras agitadas

Constructo	hALB	hFc		scFc	
Formulación	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
Número de partículas proteicas visibles (>125 µm) por vial					
65h, 500 rpm	0	1	1	0	0

Las muestras anteriormente mencionadas también fueron analizadas mediante cromatografía de exclusión por tamaño de ultra-alto desempeño (SE-UPLC) a fin de cuantificar el contenido porcentual de especies de alto peso molecular (HMWS). Se aplicó el mismo método que aquél descrito en el Ejemplo 4. Los contenidos de HMWS de las muestras agitadas se detallan en la Tabla 12. La formación de HMWS fue más pronunciada en el constructo de anticuerpo hFc para Diana A cuando se la compara con las preparaciones K60RTrT. Las HMWS fueron más abundantes en el hFc para Diana A que en el scFc para Diana A.

Tabla 12: Resumen de los contenidos de HMWS en las preparaciones de hALB, hFc, y scFc para Diana A estresadas (salto de pH + 2s a 37°C), determinados mediante SE-UPLC

Constructo	hALB	hFc	scFc
------------	------	-----	------

Formulación	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%HMWS					
65h, 500 rpm	1,8	5,8	2,4	1,8	0,3

[274] Ejemplo 7:

Los constructos de anticuerpo hALB, hFc, y scFc para Diana A formulados como se describe en el Ejemplo 4 fueron expuestos a luz visible y UVA (foto-estrés). La concentración de proteína totalizó 1 mg/ml en todas las preparaciones. Las soluciones de proteína fueron filtradas a través de un filtro con tamaño de poro de 0,22 μm y se llenaron hasta 0,5 ml en viales de vidrio de tipo I. Los hALB y scFc para Diana A fueron sometidos a dos ensayos diferentes incluyendo 0,2 MLux de luz visible / 25 W*h/m² de luz UVA y 1,2MLux de luz visible / 173 W*h/m² respectivamente. El hFc para Diana A fue sometido a dos ensayos diferentes incluyendo 0,2 MLux de luz visible sin luz UVA y 1,2 MLux de luz visible / 30 W*h/m² de luz UVA respectivamente. Las temperaturas de cámara fueron ajustadas a 25°C. Luego de la exposición a la luz, las muestras fueron analizadas mediante inspección visible (Tabla 13), SE-UPLC (Tabla 14) y mapeo de péptidos (Tabla 15). Los métodos anteriormente mencionados fueron llevados a cabo de acuerdo con los procedimientos descriptos en el Ejemplo 4. A pesar de que los constructos de anticuerpo hALB, y scFc para diana A fueron expuestos a dosis mayores de luz UVA, no se observaron partículas proteicas visibles, mientras que las muestras de constructo de anticuerpo hFc para Diana A exhibieron una partícula proteica visible por vial para ambos ensayos, independientemente de la formulación.

Tabla 13: Resumen del número de partículas proteicas visibles por vial en las preparaciones de constructos de anticuerpo hALB, hFc, y scFc de Diana A-determinado luego de exposición a la luz

Constructo	hALB	hFc		scFc	
Formulación	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
Número de partículas proteicas visibles (>125 μm) por vial					
T0	0	0	1	0	0
Ensayo 1	0 ¹⁾	1 ²⁾	1 ²⁾	0 ¹⁾	0 ¹⁾
Ensayo 2	0 ³⁾	1 ⁴⁾	1 ⁴⁾	0 ³⁾	0 ³⁾

¹⁾ 0,2 MLux de luz visible / 25 W*h/m² de luz UVA, ²⁾ 0,2 MLux de luz visible sin luz UVA,

³⁾ 1,2 MLux de luz visible / 173 W*h/m², ⁴⁾ 1,2 MLux de luz visible / 30 W*h/m²

Las HMWS se incrementaron en el siguiente orden de constructos de anticuerpo hALB para Diana A < scFc para Diana A < hFc para Diana A cuando la proteína se formuló en K60RTrT. Las HMWS podrían reducirse en los constructos basados en Fc cuando se los formula en G40MSuT. Sin embargo las HMWS otra vez fueron menos pronunciadas para el scFc para Diana A. El constructo de anticuerpo hFc para diana A reveló ser especialmente sensible a la exposición a la luz UVA.

Tabla 14: Resumen de los contenidos de HMWS en preparaciones de constructos de anticuerpo hALB, hFc, y scFc para Diana A determinados mediante SE-UPLC luego de la exposición a la luz

Constructo	hALB	hFc		scFc	
Formulación	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%HMWS					
T0	1,8	6,7	3,3	2,5	1,3
Ensayo 1	1,8 ¹⁾	6,3 ²⁾	2,5 ²⁾	2,1 ¹⁾	0,4 ¹⁾
Ensayo 2	2,0 ³⁾	11,0 ⁴⁾	2,1 ⁴⁾	2,4 ³⁾	0,3 ³⁾

¹⁾ 0,2 MLux de luz visible / 25 W*h/m² de luz UVA, ²⁾ 0,2 MLux de luz visible sin luz UVA, ³⁾ 1,2 MLux de luz visible / 173 W*h/m², ⁴⁾ 1,2 MLux de luz visible / 30 W*h/m²

Los porcentajes de modificaciones químicas de regiones determinantes de complementariedad (CDRs) y de porciones extendedoras de la vida media (ya sea hALB o Fc) detectados en las preparaciones de constructos de anticuerpo hALB, hFc, y scFc para Diana A se dan en la Tabla 15. Cuando se comparan condiciones de preparación similares, se vuelve obvio que en general, las modificaciones químicas fueron menos abundantes en los constructos scFc.

Tabla 15: Resumen de modificaciones químicas en preparaciones de constructos de anticuerpo hALB, hFc, y scFc para Diana A determinadas por mapeo de péptidos luego de exposición a la luz

Constructo	hALB	hFc		scFc	
Formulación	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%N101 desamidación (CDR)					
T0	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2
Ensayo 1	0,2 ¹⁾	n.e.	0,3 ²⁾	n.e.	0,5 ¹⁾
Ensayo 2	0,2 ³⁾	n.e.	0,6 ⁴⁾	n.e.	0,7 ³⁾
%N162 desamidación (CDR)					
T0	3,0	1,7	1,9	2,3	2,5
Ensayo 1	3,0 ¹⁾	n.e.	2,1 ²⁾	n.e.	2,7 ¹⁾
Ensayo 2	3,6 ³⁾	n.e.	3,1 ⁴⁾	n.e.	2,8 ³⁾
%M279 oxidación (CDR)					
T0	0,6	1,4	1,6	0,6	1,0

Constructo	hALB	hFc		scFc	
Formulación	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
Ensayo 1	0,8 ¹⁾	n.e.	2,6 ²⁾	n.e.	0,6 ¹⁾
Ensayo 2	1,0 ³⁾	n.e.	6,3 ⁴⁾	n.e.	0,7 ³⁾
%N348 desamidación (CDR)					
T0	0,5	3,2	3,3	0,5	0,9
Ensayo 1	0,4 ¹⁾	n.e.	2,7 ²⁾	n.e.	0,2 ¹⁾
Ensayo 2	0,9 ³⁾	n.e.	3,9 ⁴⁾	n.e.	0,2 ³⁾
%N351 desamidación (CDR)					
T0	0,2	2,9	2,6	0,5	1,0
Ensayo 1	0,4 ¹⁾	n.e.	2,0 ²⁾	n.e.	0,3 ¹⁾
Ensayo 2	0,5 ³⁾	n.e.	2,6 ⁴⁾	n.e.	0,3 ³⁾
%M530 oxidación (Fc)					
T0	n.a.	3,9	4,1	2,6	3,2
Ensayo 1	n.a.	n.e.	7,6 ²⁾	n.e.	3,1 ¹⁾
Ensayo 2	n.a.	n.e.	21,8 ⁴⁾	n.e.	4,1 ³⁾
%M706 oxidación (Fc)					
T0	n.a.	3,2	3,6	1,5	2,1
Ensayo 1	n.a.	n.e.	6,5 ²⁾	n.e.	1,8 ¹⁾
Ensayo 2	n.a.	n.e.	17,8 ⁴⁾	n.e.	2,7 ³⁾
%M587 oxidación (hALB)					
T0	1,0	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Ensayo 1	1,5	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Ensayo 2	2,4	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
%M623 oxidación (hALB)					
T0	1,9	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Ensayo 1	4,0	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Ensayo 2	4,1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
%M798 oxidación (hALB)					
T0	1,4	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Ensayo 1	2,1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Ensayo 2	3,1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
%M829 oxidación (hALB)					
T0	8,9	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Ensayo 1	31,0	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Ensayo 2	25,2	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

n.a. = no aplicable; n.e. = no ensayado

[275] Ejemplo 8:

El constructo de anticuerpo hALB para Diana A se formuló en K60RTrT y el scFc para Diana A se formula en G40MSuT de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 4. Las concentraciones de proteína totalizaron 0,05 mg/ml. Recipientes de ensayo de vidrio (borosilicato, tipo I, vial de 13 mm 3cc de West, Art. No. 68000375) y polipropileno (2 ml con O-ring, p.ej.. de Sarstedt, Art No. 72.694.005) se llenan con 500 µL de la solución de ensayo. La solución de ensayo se dejó por cinco minutos en el primer recipiente de ensayo. Luego se tomó como muestra una alícuota de 150 µl para análisis. El resto de la solución de ensayo (350 µl) se transfirió de manera secuencial de un recipiente de ensayo a otro (cinco recipientes en total). En cada vial, se dejó la solución por cinco minutos antes de la siguiente transferencia.

Se usó la misma punta de pipeta para cada paso de transferencia. Se llevó a cabo la misma prueba usando botellas de polycarbonato de 30 ml (Nalgene, PCS-000295 con cierre, PP/20-415/ZTPE). Para este tipo de recipiente el primer recipiente se llenó con 5 ml. Luego de tomar como una muestra una alícuota de 150 µl, se transfirió el volumen residual de un recipiente de ensayo al siguiente (de acuerdo con el procedimiento ya descrito). Se analizaron mediante SE-UPLC muestras tomadas de los recipientes N°1 y N°5 (método como se describió en el Ejemplo 4). Además la detección de proteína se llevó a cabo con un detector PDA (280 nm) con el fin de determinar las concentraciones de proteína. El porcentaje de proteína recuperado de cada recipiente de ensayo se brinda en la Tabla 16. Se mostró que la recuperación de proteína fue más pronunciada para el constructo de anticuerpo scFc para Diana A que para el constructo de anticuerpo hALB para Diana A sin importar el tipo de recipiente.

Tabla 16: Recuperación de proteína de diferentes tipos de recipientes para los constructos de anticuerpo hALB y scFc para Diana A determinada mediante SE-UPLC

Constructo	hALB	scFc
Formulación	K60RTrT	G40MSuT
% de proteína recuperada (de la nominal)		
Vidrio tipo I	80,0	92,0
Polipropileno	87,0	97,3
Polycarbonato	87,0	96,0

[276] Ejemplo 9:

[277] El constructo de anticuerpo hALB para Diana A se formula en K60RTrT y el constructo de anticuerpo scFc para Diana A se formula en K60RTrT y G40MSuT de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 4. La concentración de proteína totalizó 1,0 mg/ml. A 1950 µL de cada solución de ensayo se le agregaron 50 µl de una solución estándar de silicio 1000 ppm (Specpure de AlfaAesar, Art.No. 38717) lo que resultó en un agregado de 25 ppm. Una solución de ensayo sin agregado sirvió como muestra control. Con la solución de ensayo con agregado así como con la muestra control se llenaron viales de vidrio tipo I de 3cc y se incubó a 37°C durante 24 horas. Todas las muestras se analizaron mediante SE-UPCL de acuerdo con el método descrito en el Ejemplo 4 con el fin de cuantificar la cantidad de HMWS (Tabla 17).

Tabla 17: Resumen de los contenidos de HMWS en preparaciones de hALB, y scFc para Diana A determinados mediante SE-UPLC luego del agregado de 25 ppm de silicio

Constructo	hALB	scFc	
Formulación	K60RTrT	K60RTrT	G40MSuT

Δ %HMWS (comparado con control sin agregado)			
Agregado de 25 ppm	1,0	1,0	0,2

[278] Ejemplo 10:

Substancias de droga preformuladas que contenían los constructos de anticuerpo purificados hALB para Diana C (cc), hFc para Diana C (cc), y scFc para Diana C (cc) respectivamente

5 fueron sometidas a cambio de buffer mediante ultrafiltración/diafiltración usando membranas con un peso molecular de corte (MWCO por sus siglas en inglés) de 10 kDa. La formulación final se obtuvo agregando soluciones stock concentradas. Las formulaciones resultantes para cada constructo se listan en la Tabla 18. La concentración de proteína diana fue de 1,0 mg/ml. Con los constructos para Diana C (cc) formulados se llenaron viales de vidrio tipo I de 1 ml

10 que fueron tapados con tapones de goma de butilo y retenidos con sellos de aluminio. Los viales llenos fueron incubados a -20, 5, 25 y 37°C. Un vial de cada versión fue sometido a cinco ciclos de congelado y descongelado (F/T). La temperatura diana de congelado fue -29°C. La temperatura diana de descongelado fue 2°C. La tasa fue de aproximadamente 0,3 K/min. Las muestras antes descritas también se analizaron mediante cromatografía de

15 ultra-alto desempeño por exclusión por tamaño (SE-UPLC) con el fin de cuantificar el contenido porcentual de especies de alto peso molecular (HMWS). La SE-UPLC se llevó a cabo de acuerdo con el método descrito en el Ejemplo 4. Cuando se la formularon en K60RTrT, las HMWS se incrementaron en el siguiente orden en las muestras sin estrés: scFc < hALB < hFc. El incremento de HMWS menos pronunciado ante el estrés por congelado descongelado se observó para el constructo scFc. El constructo de anticuerpo hFc reveló ser

20 mayormente propenso a la formación de HMWS a -20°C. Los contenidos de HMWS se incrementaron luego de cuatro semanas de almacenamiento a 5°C. La formación de HMWS bajo esas condiciones fue más pronunciada para constructos basados en Fc que para constructos basados en albúmina. En K60RTrT no se observaron incrementos significativos

25 en HMWS a temperaturas de almacenamiento elevadas (25 y 37°C). Cuando se los formula en G40MSuT, todos los constructos revelaron contenidos de HMWS similares en las muestras sin estrés. El incremento durante el congelado descongelado fue más diferente para los constructos basados en Fc si se comparan con los constructos basados en albúmina. En G40MSuT, el constructo hFc fue menos estable durante el almacenamiento a -20°C. Sólo se

30 observaron incrementos considerables en HMWS durante el almacenamiento en líquido para el constructo hALB.

Tabla 18: Resumen de los contenidos de HMWS en preparaciones estresadas y sin estrés (T0) de los constructos de anticuerpo hALB, hFc, y scFc para Diana C (cc) determinados mediante SE-UPLC

Constructo	hALB		hFc		scFc	
Formulación	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%HMWS						
T0	1,5	0,3	2,7	0,3	1,3	0,3
5 ciclos F/T	2,0	0,5	3,1	0,7	1,6	0,7
2s -20°C	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	1,5	0,5
2s 5°C	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	1,8	0,2
2s 25°C	1,7	0,6	2,3	0,2	1,3	0,2
2s 37°C	1,9	0,7	1,8	0,2	1,2	0,2
4s -20°C	1,6	0,4	4,2	1,5	1,7	0,9
4s 5°C	1,9	0,3	3,3	0,3	2,1	0,4
4s 25°C	1,4	0,6	2,2	0,2	1,4	0,4
4s 37°C	1,3	0,7	2,0	0,1	1,4	0,3

n.e. = no ensayado

La abundancia de modificaciones químicas frente al estrés por calor (incubación a 37°C) se controló mediante mapeo de péptidos de acuerdo con el método descrito en el Ejemplo 4. Los porcentajes de modificaciones químicas de las regiones determinantes de complementariedad (CDRs) detectados en las preparaciones de hALB, hFc, y scFc para Diana C (cc) se dan en la Tabla 19. En general, el scFc para Diana C (cc) exhibió la menor cantidad de modificaciones químicas en las CDRs. Fue evidente que en especial las desaminaciones de las CDRs fueron menos pronunciadas para el constructo scFc.

Tabla 19: Resumen de modificaciones químicas en preparaciones de constructos de anticuerpo estresadas y no estresadas (T0) de hALB, hFc, y scFc para Diana C (cc) determinadas mediante mapeo de péptidos

Constructo	hALB		hFc		scFc	
Formulación	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%M34 oxidación (CDR)						
T0	1,0	1,8	1,0	1,4	1,7	1,9
2s 37°C	0,9	1,3	0,9	1,1	1,0	1,7
4s 37°C	n.e.	n.e.	n.e.	1,6	n.e.	1,8
%D103 isomerización (CDR)						
T0	0,8	0,8	0,8	0,8	0,6	0,6
2s 37°C	4,0	4,6	4,5	4,4	5,8	7,3
4s 37°C	n.e.	n.e.	n.e.	8,0	n.e.	12,4
%M290 oxidación (CDR)						
T0	0,7	1,4	0,8	1	1,3	1,4
2s 37°C	0,7	1,0	0,8	0,8	0,8	1,3
4s 37°C	n.e.	n.e.	n.e.	1,2	n.e.	1,6
%N359 desamidación (CDR)						
T0	5,8	11,4	5,3	6,3	0,4	0,5
2s 37°C	19,3	5,8	11,2	2,8	7,0	0,9
4s 37°C	n.e.	n.e.	n.e.	2,9	n.e.	2,2
%N362 desamidación (CDR)						
T0	5,4	8,7	3,9	4,0	0,2	0,3
2s 37°C	13,5	3,6	6,7	1,2	3,1	0,3

Constructo	hALB		hFc		scFc	
Formulación	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
4s 37°C	n.e.	n.e.	n.e.	1,4	n.e.	0,7

n.a. = no aplicable; n.e. = no ensayado

[279] Ejemplo 11:

Constructos de anticuerpo hALB, hFc, y scFc para Diana C (cc) formulados como se describió en el Ejemplo 4 fueron sometidos a un experimento de salto de pH. La concentración de los materiales de partida fue de 1,0 mg/ml. Se llenó con un volumen de 0,38 ml de cada material de partida un vial de vidrio. Luego de pre-acondicionamiento a 37°C se adicionó a las soluciones solución fisiológica tamponada con 20 veces de fosfato (PBS) la cual estaba compuesta de fosfato de potasio 0,090 M, fosfato de sodio 0,480 M (ambos dibásicos), cloruro de potasio 0,052 M y NaCl 2,76 M. Las muestras adicionadas se incubaron a 37°C durante dos semanas. Luego de la incubación se las analizó mediante SE-UPLC usando el método descrito en el Ejemplo 4 y se reportó el contenido porcentual de HMWS (Tabla 20). Los constructos scFc para Diana C (cc) mostraron el más bajo contenido de HMWS luego del salto de pH en comparación con los hALB y hFc para Diana C (cc) sin importar la formulación.

Tabla 20: Resumen de los contenidos de HMWS en preparaciones de los constructos de anticuerpo hALB, hFc, y scFc para Diana C (cc) sometidas a estrés (salto de pH + 2s a 37°C) determinados mediante SE-UPLC

Constructo	hALB		hFc		scFc	
Formulación	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%HMWS						
2s 37°C	1,7	4,8	1,6	1,8	1,1	1,5

[280] Ejemplo 12:

Los constructos de anticuerpo hALB, hFc, y scFc para Diana C (cc) formulados como se describió en el Ejemplo 10 fueron sometidos a estrés por agitación. La concentración de los materiales de partida fue de 1,0 mg/ml. Un volumen de 0,5 ml de cada solución se filtró a través de un filtro de 0,22 µm apropiado y se llenaron con ello viales de vidrio tipo I de 3cc. Los viales se colocaron en una caja plástica asegurándose de que los viales no se movieran dentro de la caja durante la agitación. La caja fue colocada en un agitador orbital. Las muestras fueron agitadas a 500 rpm durante 65 horas. Las muestras se analizaron mediante SE-UPLC con el fin de cuantificar el contenido porcentual de especies de alto peso molecular (HMWS). Se aplicó el mismo método descrito en el Ejemplo 4. Los contenidos de HMWS de las muestras agitadas se presentan en la Tabla 21. La formación de HMWS fue menos pronunciada para el scFc para la Diana C (cc) en cualquiera de las formulaciones.

Tabla 21: Resumen del contenido de HMWS en preparaciones de los constructos de anticuerpo hALB, hFc, y scFc para Diana C (cc)-sometidas a estrés (salto de pH + 2s a 37°C) determinado mediante SE-UPLC

Constructo	hALB		hFc		scFc	
Formulación	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%HMWS						
65h, 500 rpm	2,1	0,8	2,3	0,4	1,3	0,2

5 [281] Ejemplo 13:

Los constructos de anticuerpo hALB, hFc, y scFc para Diana C (cc) formulados como se describió en el Ejemplo 4 fueron expuestos a luz visible y UVA (estrés lumínico). La concentración de proteína totalizó 1 mg/ml en todas las preparaciones. Las soluciones de proteína se filtraron a través de un filtro con tamaño de poro de 0,22 µm y se llenaron con ellas viales de vidrio tipo I de 0,5 ml. Los hALB y scFc para Diana C (cc) se sometieron a dos ensayos diferentes incluyendo 0,2 MLux de luz visible / 25 W*h/m² de luz UVA y 1,2 MLux de luz visible / 173 W*h/m² respectivamente. El hFc para Diana C (cc) se sometió a dos ensayos diferentes incluyendo 0,2 MLux de luz visible sin luz UVA y 1,2 MLux de luz visible / 30 W*h/m² de luz UVA respectivamente. Las temperaturas de la cámara se ajustaron a 25°C. Luego de la exposición a la luz las muestras se analizaron por SE-UPLC (Tabla 22) y por mapeo de péptidos (Tabla 23). Los métodos mencionados se llevaron a cabo de acuerdo con los procedimientos del Ejemplo 4. A pesar de la más alta intensidad de luz UVA aplicada al scFc para Diana C (cc), este constructo fue estable contra la formación de HMWS. En cambio, el hFc para Diana C (cc) y el hALB para Diana C (cc) mostraron un incremento en HMWS frente a las 2 condiciones de ensayo.

Tabla 22: Resumen de los contenidos de HMWS en preparaciones de los constructos de anticuerpo hALB, hFc, y scFc para Diana C (cc) determinados mediante SE-UPLC luego de la exposición a la luz

Constructo	hALB		hFc		scFc	
Formulación	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
%HMWS						
T0	1,5	0,3	2,7	0,3	1,3	0,3
Ensayo 1	1,8 ¹	0,3 ¹	2,5 ²	0,3 ²	1,4 ¹	0,3 ¹
Ensayo 2	4,6 ³	1,1 ³	6,0 ⁴	0,7 ⁴	1,5 ³	0,3 ³

¹⁾ 0,2 MLux de luz visible / 25 W*h/m² de luz UVA, ²⁾ 0,2 MLux de luz visible sin luz UVA,
³⁾ 1,2 MLux de luz visible / 173 W*h/m², ⁴⁾ 1,2 MLux de luz visible / 30 W*h/m²

En general las modificaciones químicas frente a la exposición a la luz fueron menos pronunciadas para el scFc para Diana C (cc). En especial, se formaron desamidaciones de las CDRs en una mayor medida en el hALB para Diana C (cc) y el hFc para Diana C (cc). Cuando se compararon constructos basados en Fc se reveló que el scFc para Diana C (cc) fue menos propenso a las modificaciones químicas de la porción Fc aunque el constructo de scFc fuera expuesto a dosis de luz UVA mayores que el constructo hFc. La tabla 23 también lista las modificaciones químicas más abundantes de la porción albúmina en el hALB para Diana C (cc) demostrando que la porción extendidora de la vida media de este constructo fue más degradada químicamente que las porciones Fc de los constructos de anticuerpo hFc y scFc para Diana C (cc).

Tabla 23: Resumen de las modificaciones químicas en preparaciones de los constructos de anticuerpo hALB, hFc, y scFc para Diana C (cc) determinadas mediante mapeo de péptidos luego de la exposición a la luz

Constructo	hALB		hFc		scFc	
Formulación	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
% de oxidación de M34 (CDR)						
T0	1,0	1,8	1,0	1,4	1,7	1,9
Ensayo 1	1,5 ¹⁾	n.e.	0,7 ²⁾	4,2 ²⁾	1,4 ¹⁾	1,2 ¹⁾
Ensayo 2	1,7 ³⁾	n.e.	1,1 ⁴⁾	4,2 ⁴⁾	1,3 ³⁾	1,7 ³⁾
% de isomerización de D103 (CDR)						
T0	0,8	0,8	0,8	0,8	0,6	0,6
Ensayo 1	0,8 ¹⁾	n.e.	0,9 ²⁾	0,9 ²⁾	0,8 ¹⁾	1,0 ¹⁾
Ensayo 2	1,1 ³⁾	n.e.	1,2 ⁴⁾	1,4 ⁴⁾	1,0 ³⁾	1,3 ³⁾
% de oxidación de M290 (CDR)						
T0	0,7	1,4	0,8	1	1,3	1,4
Ensayo 1	1,1 ¹⁾	n.e.	0,5 ²⁾	3,3 ²⁾	1,0 ¹⁾	0,9 ¹⁾
Ensayo 2	1,4 ³⁾	n.e.	1,1 ⁴⁾	4,2 ⁴⁾	1,0 ³⁾	1,4 ³⁾
% de desamidación de N359 (CDR)						
T0	5,8	11,4	5,3	6,3	0,4	0,5
Ensayo 1	10,8 ¹⁾	n.e.	4,5 ²⁾	5,6 ²⁾	0,4 ¹⁾	0,2 ¹⁾
Ensayo 2	12,4 ³⁾	n.e.	10,3 ⁴⁾	3,6 ⁴⁾	0,6 ³⁾	0,2 ³⁾
% de desamidación de N362 (CDR)						
T0	5,4	8,7	3,9	4,0	0,2	0,3
Ensayo 1	8,8 ¹⁾	n.e.	3,4 ²⁾	3,5 ²⁾	0,3 ¹⁾	0,3 ¹⁾
Ensayo 2	9,8 ³⁾	n.e.	6,4 ⁴⁾	2,3 ⁴⁾	0,5 ³⁾	0,3 ³⁾
% de isomerización de D510 (Fc)						
T0	n.a.	n.a.	0,4	0,4	0,5	0,4
Ensayo 1	n.a.	n.a.	0,4 ²⁾	0,6 ²⁾	0,6 ¹⁾	0,5 ¹⁾
Ensayo 2	n.a.	n.a.	0,7 ⁴⁾	0,7 ⁴⁾	0,7 ³⁾	0,7 ³⁾
% de oxidación de M541 (Fc)						
T0	n.a.	n.a.	2,8	3	3,7	4,1
Ensayo 1	n.a.	n.a.	5,0 ²⁾	0,7 ²⁾	3,8 ¹⁾	3,8 ¹⁾
Ensayo 2	n.a.	n.a.	17,5 ⁴⁾	18,4 ⁴⁾	4,8 ³⁾	5,5 ³⁾

Constructo	hALB		hFc		scFc	
Formulación	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT	K60RTrT	G40MSuT
% de desamidación de N614 (Fc)						
T0	n.a.	n.a.	1,2	1,2	1,6	1,5
Ensayo 1	n.a.	n.a.	1,3 ²⁾	1,7 ²⁾	2,8 ¹⁾	2,2 ¹⁾
Ensayo 2	n.a.	n.a.	6,1 ⁴⁾	1,9 ⁴⁾	1,9 ³⁾	2,3 ³⁾
% de desamidación de N673 (Fc)						
T0	n.a.	n.a.	0,3	0,3	0,0	0,0
Ensayo 1	n.a.	n.a.	0,5 ²⁾	0,6 ²⁾	0,5 ¹⁾	0,6 ¹⁾
Ensayo 2	n.a.	n.a.	0,5 ⁴⁾	0,6 ⁴⁾	0,5 ³⁾	1,5 ³⁾
% de oxidación de M717 (Fc)						
T0	n.a.	n.a.	2,1	2,4	2,5	2,8
Ensayo 1	n.a.	n.a.	4,1 ²⁾	7,3 ²⁾	2,2 ¹⁾	2,3 ¹⁾
Ensayo 2	n.a.	n.a.	13,7 ⁴⁾	13,5 ⁴⁾	2,8 ³⁾	3,8 ³⁾
% de oxidación de M598 (hALB)						
T0	1,0	n.e.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Ensayo 1	2,3 ¹⁾	n.e.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Ensayo 2	6,4 ³⁾	n.e.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
% de oxidación de M809 (hALB)						
T0	1,8	n.e.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Ensayo 1	3,5 ¹⁾	n.e.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Ensayo 2	8,3 ³⁾	n.e.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
% de oxidación de M840 (hALB)						
T0	12,8	n.e.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Ensayo 1	32,0 ¹⁾	n.e.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Ensayo 2	61,7	n.e.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
% de glicosilación de K1036 (hALB)						
T0	10,1	n.e.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Ensayo 1	10,2 ¹⁾	n.e.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Ensayo 2	9,9 ³⁾	n.e.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

¹⁾ 0,2 MLux de luz visible / 25 W*h/m² de luz UVA, ²⁾ 0,2 MLux de luz visible sin luz UVA,

³⁾ 1,2 MLux de luz visible / 173 W*h/m², ⁴⁾ 1,2 MLux de luz visible / 30 W*h/m²

[282] Ejemplo 14

- 5 Diferentes constructos de anticuerpo BiTE® diseñados para hacer diana en la Diana C incluyendo sin vida media extendida para Diana C (no HLE, “canónico”), hALB para Diana C (que comprende albúmina de suero humana), y scFc para Diana C (que comprende una modalidad scFc como tercer dominio como se describe más arriba) fueron formulados en una solución que comprende clorhidrato de arginina 100 mM, dihidrato de trehalosa 8% (p/v) y
- 10 Polisorbato 80. La concentración de proteína diana fue 1,0 mg/mL para el hALB y scFc y 0,4 mg/mL para la versión no HLE. Con los constructos de anticuerpo BiTE® formulados se llenaron viales de vidrio tipo I hasta 1 mL que fueron tapados con tapones de goma de butilo y retenidos con sellos de aluminio. Los viales llenos fueron incubados a -20°C y 37°C (sin y con 25 ppm de silicio el cual es conocido por su potencial para inducir agregación de
- 15 proteínas) durante 4 semanas. Los constructos anteriores fueron también expuestos a luz (1,2

MLux de luz visible / 173 W*h/m² de luz UVA). Para estrés lumínico la temperatura de la cámara fue fijada en 25°C. Las muestras almacenadas a -70°C sirvieron como controles (T0).

Las muestras descritas más arriba fueron analizadas por duplicado mediante cromatografía de ultra-alta performance de exclusión de tamaño (SE-UPLC) con el objeto de cuantificar el contenido porcentual de especies de alto peso molecular (HMWS). Se llevó a cabo la SE-UPLC en un sistema Aquity H-Class UPLC (Waters) utilizando una columna Acquity UPLC BEH200 SEC 150 mm (Waters). La temperatura de la columna fue fijada en 25°C. La separación de variantes de tamaño fue lograda aplicando un método isocrático con un caudal de 0,4 mL/min. La fase móvil estaba compuesta de fosfato de sodio 100 mM, NaCl 250 mM, pH 6,8. El tiempo de corrida totaliza 6,0 minutos. Las muestras fueron mantenidas a 8°C dentro del automuestreador hasta análisis. Se inyectó una cantidad total de 3 µg de proteína. Con el objeto de evitar acumulación se llevó a cabo una inyección intermedia con ACN 40% después de cada muestra. La detección se basó en fluorescencia (excitación a 280 nm, emisión a 325 nm). La integración de picos fue llevada a cabo utilizando el software Empower®. Se informó el área relativa bajo la curva de HMWS (24).

En las muestras no estresadas, HMWS fueron menos pronunciadas para el constructo scFc. La formación de HMWS fue observada exclusivamente durante 4 semanas de almacenamiento a -20°C. Los contenidos de HMWS bajo estas condiciones aumentan en el siguiente orden scFc < hALB < no HLE.

Tabla 24: Resumen de contenidos de HMWS en preparaciones estresadas y no estresadas (T0) de no HLE, hALB y scFc para Diana C determinados mediante SE-UPLC.

Constructo	No HLE (canónico)	hALB	scFc
T0	1,3%	1,3%	1,0%
4s -20°C	4,6%	1,8%	1,6%
4s 37°C	0,9%	0,6%	0,5%
4s 37°C (25 ppm de silicio)	1,1%	0,8%	0,8%
Exposición a la luz	1,0%	0,9%	0,5%

[283] Adicionalmente, se evaluaron muestras derivadas de estrés por calor en ausencia y presencia de silicio en cuanto a la abundancia de partículas subvisibles mediante Microfluid Imaging (MFI) utilizando una Flowcam de Fluid Imaging Technologies, Inc. El instrumento

estaba equipado con una celda de flujo FC80FV. Se aplicó una magnificación óptica de diez veces. Se verificó la aptitud del sistema con agua libre de partículas. Se aplicó una tasa de autoimagen de 20 cuadros por segundo. Los umbrales de luz y sombra fueron fijados en 25 y 20 píxeles respectivamente. El volumen de muestra para una medición separada totalizó 0,25 mL. Las muestras fueron medidas por triplicado. Antes de cada triplicado, el sistema fue lavado con 0,5 mL de las respectivas soluciones de muestra. En el comienzo y entre cada triplicado se llevó a cabo un lavado con 1,0 mL de agua libre de partículas. La evaluación de datos fue llevada a cabo con el software Visual Spreadsheet. Las muestras fueron medidas por triplicado. Los resultados se resumen en la Tabla 25.

El estrés por calor dio por resultado formación de partículas subvisibles en preparaciones que contenían constructos no HLE y hALB. En contraste, el constructo scFc permaneció estable. La formación de partículas subvisibles no fue promovida por la adición de silicio independientemente de la naturaleza del constructo de anticuerpo BiTE®.

Tabla 25: Evaluación de partículas subvisibles mediante MFI en preparaciones de no HLE (canónico), hALB y scFc para Diana F después de estrés por calor en ausencia y presencia de silicio.

Constructo	No HLE (canónico)				hALB				scFc			
Tamaño de partícula [µm]	≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25	≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25	≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25
T0	146	35	12	0	281	71	35	0	298	150	33	0
4s 37°C	410	163	23	0	742	225	11	0	110	44	0	0
4s 37°C (25 ppm de silicio)	69	35	11	0	272	91	34	0	146	55	11	0

Las muestras de estrés por calor también fueron analizadas mediante cromatografía de Intercambio de Cationes Débiles (WCX por sus siglas en inglés) con el objeto de cuantificar el contenido porcentual de variantes de carga utilizando un UPLC Aquity clase H de Waters. Se aplicó una columna Protein-Pak Hi Res CM 7µm 4,6 x 100 mm (Waters, cat No. 186004929). La temperatura de la columna fue ajustada a 30°C. El caudal fue fijado en 0,65 mL/min. El gradiente aplicado fue diseñado como sigue (Tabla 26). La temperatura del automuestreador fue mantenida en 2-8°C.

Tabla 26: Gradiente aplicado para cromatografía WCX

Tiempo [min:seg]	% A	% B
	Fosfato de sodio 20 mM, pH 6,5	Fosfato de sodio 20 mM, Cloruro de sodio 250 mM, pH 6,5
00:00	100	0
04:00	100	0
25:00	50	50
25:01	0	100
29:00	0	100
29:01	100	0
33:00	100	0

[284] Se inyectó una cantidad total de 3 µg de proteína. La detección fue basada en fluorescencia (excitación a 280 nm, emisión a 325 nm). La integración de picos fue llevada a cabo utilizando el software Empower®. Se informaron las áreas relativas bajo la curva del pico principal así como las variantes de carga ácidas y básicas (**Tabla 27**).

El estrés por calor dio por resultado un porcentaje de picos principales reducido lo cual debió ser atribuido a una formación predominante de variantes de carga ácidas. La pérdida en porcentaje de picos principales fue menos pronunciada para el constructo scFc (7,5%). Las variantes de carga básicas fueron formadas en ambos constructos con vida media extendida ante la exposición a la luz. El incremento en las variantes de carga básicas estuvieron en el rango entre 5 y 6% en los constructos hALB y scFc.

Tabla 27: Evaluación de variantes de carga mediante cromatografía WCX en preparaciones de no HLE (canónico), hALB y scFc para Diana F después de estreses inducidos por calor y luz

Constructo	No HLE (canónico)			hALB			scFc		
	% principal	% ácidos	% básicos	% principal	% ácidos	% básicos	% principal	% ácidos	% básicos
T0	89,9	3,6	6,5	83,3	0,7	16,0	74,5	3,4	22,1
4s 37°C	79,3	11,1	9,5	75,6	9,8	14,6	67,0	11,2	21,8

Además, la pureza de las muestras fue cuantificada en muestras estresadas por calor y luz utilizando un ensayo de electroforesis de capilaridad microfluídico con dodecilsulfato de sodio (CE-SDS por sus siglas en inglés) basado en el sistema LabChip GXII (Perkin Elmer). La solución desnaturalizadora de muestras estaba compuesta del HT Protein Express Sample Buffer (provisto por Perkin Elmer) suplementado con ditioneitol 34 mM. Cada muestra fue diluida 1:8 con la solución desnaturalizadora y calentada hasta 70°C durante 10 minutos junto con Protein Express Ladder. Se agregaron 35 µL de agua para inyección (WFI por sus siglas en inglés) a 40 µL de la muestra desnaturalizada. Se agregaron 120 µL de WFI a 12 µL de Ladder. Se transfirieron las muestras, el Ladder, buffer de lavado exprés de proteínas, tintura en gel y solución de destañido a los respectivos reservorios. Las muestras son electrocinéticamente cargadas desde una placa de microtitulación sobre el chip integrando la separación, tñido, destañido, y detección de la proteína y sus variantes de tamaño. Los electroferogramas resultantes fueron evaluados y se informaron los cambios en pureza. Un resumen de la pureza porcentual detectada pos-estrés está brindado en la **Tabla 28** y comparado con las muestras no estresadas (T0).

Se observaron mayores purezas para los constructos hALB y scFc comparados con el constructo no HLE bajo todas las condiciones. Se detectaron leves disminuciones en pureza comparado con T0 para los constructos hALB y scFc ante estreses de calor y luz. La pérdida en pureza después de almacenamiento de 4 semanas a 37°C totaliza 8,4% para el constructo hALB y 6,6% para los constructos scFc. Las pérdidas ante exposición a la luz fueron comparables entre hALB y scFc.

Tabla 28: Resumen de la pureza porcentual en preparaciones estresadas y no estresadas (T0) de no HLE, hALB, y scFc para Diana F determinada mediante LabChip GXII (Caliper).

Constructo	No HLE (canónico)	hALB	scFc
T0	57,4	96,0	92,2
4s 37°C	60,6	87,6	85,6
Exposición a la luz	61,5	90,1	86,4

[285] Ejemplo 15

Se formularon a pH 7 diferentes constructos de anticuerpo BiTE® diseñados para hacer diana en la Diana D incluyendo hALB para Diana D y scFc para Diana D. La concentración de

proteína diana era 1,0 mg/mL para ambos constructos. Se llenaron viales de vidrio tipo I hasta 1 mL con los constructos de anticuerpo BiTE® formulados, los cuales fueron tapados con tapones de goma de butilo retenidos con sello de aluminio. Los viales llenos se incubaron a 37°C (hALB para Diana D) y 40°C (scFc para Diana D) durante 4 semanas. Las muestras almacenadas a -70°C sirvieron como controles (T0). Las muestras fueron analizadas mediante SE-UPLC de acuerdo con el método descrito en el **Ejemplo 14**. Los resultados están resumidos en la **Tabla 29**.

El constructo scFc exhibió una pérdida de monómero reducida (2,3%) ante el estrés por calor comparado con el constructo hALB (4,0%) aunque la temperatura de incubación fue levemente mayor.

Tabla 29: Resumen de porcentaje de pico de monómero en preparaciones estresadas y no estresadas (T0) de hALB para Diana D y scFc para Diana D determinadas mediante SE-UPLC.

Constructo	hALB	scFc
T0	97,6%	99,8%
4s	93,6%	97,5%

[286] Ejemplo 16

Se examinaron diferentes constructos de anticuerpo BiTE® diseñados para hacer diana en PSMA incluyendo no HLE (canónico) y scFc para PSMA. La concentración de proteína diana era 1,0 mg/mL. Se llenaron viales de vidrio tipo I hasta 1 mL con los constructos de anticuerpo BiTE® formulados, los cuales fueron tapados con tapones de goma de butilo retenidos con sello de aluminio. Los viales llenos se incubaron a -20°C y 37°C (sin y con 25 ppm de silicio) durante 4 semanas. Los constructos anteriores fueron también expuestos a la luz (1,2 MLux de luz visible / 173 W*h/m² de luz UVA). Para el estrés por luz la temperatura de la cámara fue fijada en 25°C. Las muestras almacenadas a -70°C sirvieron como controles (T0). Todas las muestras fueron analizadas mediante SE-UPLC de acuerdo con el método descrito en el **Ejemplo 14**. Los resultados se resumen en la **Tabla 30**.

Los constructos scFc mostraron mayores contenidos de monómeros que el constructo no HLE bajo todas las condiciones de estrés indicando una menor propensión a la formación de especies de peso molecular alto (agregados) o bajo (fragmentos) del constructo scFc.

Tabla 30: Resumen de los contenidos de monómeros en preparaciones estresadas y no estresadas (T0) de no HLE para PSMA y scFc para PSMA determinados mediante SE-UPLC.

Constructo	No-HLE (canónico)	scFc
T0	97,0%	98,6%
4s -20°C	96,7%	98,9%
4s 37°C	88,3%	94,1%
4s 37°C (25 ppm de silicio)	90,4%	96,1%
Exposicion a la luz	96,1%	99,0%

Adicionalmente, las muestras derivadas de estrés por calor en ausencia y presencia de silicio fueron evaluadas en cuanto a la abundancia de partículas subvisibles mediante Microfluid Imaging (MFI) utilizando el método descrito en el **Ejemplo 14**. Los resultados están resumidos en la **Tabla 31**.

El constructo scFc reveló una abundancia significativamente menor de partículas subvisibles que el constructo no HLE cuando se sometieron a estrés por calor en ausencia y presencia de silicio.

Tabla 31: Evaluación de partículas subvisibles mediante MFI en preparaciones no HLE (canónico) para PSMA y scFc para PSMA después de estrés por calor en ausencia y presencia de silicio.

Constructo	No HLE (canónico)				scFc			
Tamaño de partícula [µm]	≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25	≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25
4s 37°C	4675	2334	1017	22	2518	1364	655	24
4s 37°C (25 ppm de silicio)	8249	4243	1906	34	965	473	179	11

Las muestras del estrés por calor y luz fueron también analizadas mediante cromatografía de Intercambio de Cationes Débiles (WCX) con el objeto de cuantificar el contenido porcentual de variantes de carga utilizando un UPLC Aquity clase H de Waters de acuerdo con el método del **Ejemplo 14**. Se informaron las áreas relativas bajo la curva del pico principal así como de las variantes de carga ácidas y básicas (**Tabla 32**).

El constructo scFc mostró porcentaje de pico principal más alto (menor cantidad de variantes de carga) que el constructo no HLE. Esta diferencia fue más pronunciada cuando se compararon muestras sometidas a estrés por calor indicando una estabilidad química superior del constructo scFc.

- 5 **Tabla 32: Evaluación de variantes de carga mediante cromatografía WCX en preparaciones no HLE (canónico) para PSMA y scFc para PSMA después de estreses inducidos por calor y luz.**

Constructo	No HLE (canónico)			scFc		
	% principal	% ácidas	% básicas	% principal	% ácidas	% básicas
T0	66,1	18,4	15,6	70,4	14,5	15,1
4s 37°C	32,1	51,8	16,1	41,5	45,6	12,9
Exposición a la luz	68,0	24,6	7,4	69,9	12,6	17,5

- Además, se cuantificó la pureza de las muestras en las muestras estresadas por calor y luz utilizando un ensayo de electroforesis de capilaridad microfluídico con dodecilsulfato de sodio (CE-SDS por sus siglas en inglés) basado en el sistema LabChip GXII (Perkin Elmer), de acuerdo con el método descrito en el **Ejemplo 14**. Un resumen de la pureza porcentual detectada pos-estrés está brindado en la **Tabla 33** y comparada con muestras no estresadas (T0).
- 15 Se observaron mayores purezas para el constructo scFc comparado con el constructo no HLE independientemente de las condiciones de estrés. En consecuencia, como se ejemplifica de este modo, los constructos scFc son más estables sobre un amplio conjunto de condiciones de estrés que los constructos de anticuerpo no HLE y, así, más seguros y más adecuados para empleo clínico versátil con condiciones de estrés cambiantes en la práctica.
- 20 **Tabla 33: Resumen de pureza porcentual en preparaciones estresadas y no estresadas (T0) de no HLE para PSMA, y scFc para PSMA determinadas mediante LabChip GXII.**

Constructo	No-HLE (canónico)	scFc
T0	89,2	100,0
4s 37°C	85,4	87,3
Exposición a la luz	89,5	93,8

[287] Ejemplo 17

Se examinaron diferentes constructos de anticuerpo BiTE® diseñados para hacer diana en la Diana B incluyendo anticuerpo cruzado (*Xbody*) para Diana B y scFc para Diana B. La concentración de proteína diana era 1,0 mg/mL. Se llenaron viales de vidrio tipo I hasta 1 mL con los constructos de anticuerpo BiTE® formulados, los cuales fueron tapados con tapones de goma de butilo retenidos con sello de aluminio. Los viales llenos se incubaron a -20°C y 37°C durante 4 semanas. Adicionalmente todas las muestras fueron expuestas a 1,2 MLux de luz visible y 173 W*h/m² de luz UVA. La temperatura de la cámara fue ajustada a 25°C. Las muestras almacenadas a -70°C sirvieron como controles (T0). Las muestras almacenadas a -20°C y 37°C fueron analizadas mediante SE-UPLC de acuerdo con el método descrito en el **Ejemplo 14**. Los resultados se resumen en la **Tabla 34**.

El constructo scFc preservó un mayor contenido de monómeros cuando se almacenó durante cuatro semanas a -20°C y 37°C respectivamente comparado con el anticuerpo cruzado (*Xbody*).

Tabla 34: Resumen de contenidos de monómeros en preparaciones estresadas y no estresadas (T0) de anticuerpo cruzado (*Xbody*) para Diana B y scFc para Diana B determinados mediante SE-UPLC.

Constructo	Anticuerpo cruzado (<i>Xbody</i>)	scFc
T0	100,0	98,8
4s -20°C	97,1	97,9
4s 37°C	94,5	95,7

Adicionalmente, las muestras no estresadas fueron evaluadas en cuanto a la abundancia de partículas subvisibles mediante Microfluid Imaging (MFI) utilizando el método descrito en el **Ejemplo 14**. Los resultados están resumidos en la **Tabla 35**. La preparación scFc para CD19 exhibió cantidades significativamente menores de partículas subdivisibles comparada con la preparación de anticuerpo cruzado (*Xbody*) para CD19. Esto aplica para todas las fracciones de tamaño incluidas.

Tabla 35: Evaluación de partículas subvisibles mediante MFI en anticuerpo cruzado para Diana B y scFc para Diana B no estresados.

Constructo	Anticuerpo cruzado (<i>Xbody</i>)	scFc
------------	-------------------------------------	------

Tamaño de partícula [µm]	≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25	≥ 2	≥ 5	≥ 10	≥ 25
T0	2648	688	192	32	160	64	43	11

También se analizaron muestras de estrés por luz mediante cromatografía de Intercambio de Cationes Débiles (WCX) con el objeto de cuantificar el contenido porcentual de variantes de carga utilizando un UPLC Aquity clase H de Waters de acuerdo con el método del **Ejemplo 14**. Se informaron las áreas relativas bajo la curva del pico principal así como de las variantes de carga ácidas y básicas (**Tabla 36**).

Tabla 36: Evaluación de variantes de carga mediante cromatografía WCX en preparaciones de anticuerpo cruzado (*Xbody*) para Diana B y scFc para Diana B después de estreses inducidos por calor y luz.

Construtto	Anticuerpo cruzado (<i>Xbody</i>)			scFc		
	% principal	% ácidas	% básicas	% principal	% ácidas	% básicas
T0	51,4	30,3	18,3	83,5	1,3	15,2
Exposición a la luz	45,9	33,2	20,9	82,1	1,2	16,7

El constructo scFc mostró una estabilidad sorprendentemente aumentada contra la exposición a la luz si se compara con el anticuerpo cruzado (*Xbody*), indicada por una pérdida menos pronunciada en el pico principal que totalizó 1,4% comparado con 5,5% del constructo de anticuerpo cruzado (*Xbody*). En consecuencia, puede deducirse de dicha configuración de ejemplo que un constructo de anticuerpo anti-PSMA provisto con un dominio scFc como HLE es superior a otros constructos de anticuerpo que comprenden diferente HLE en términos de resistencia al estrés y, en consecuencia, presenta sorprendentemente mejorada estabilidad.

[288] Ejemplo 18 Cromatografía de exclusión por tamaño de variantes de scFc biespecíficas

Los constructos D9F, T2G, D3L, T7I y K6C (ver Figura 6) fueron cada uno ensayados en cuanto a su comportamiento de corrida mediante cromatografía de exclusión por tamaño de acuerdo con procedimientos estándar. En detalle, se corrió una cantidad definida de 25 µg de cada constructo (a 750 µl/min) en Buffer Citrato Lisina (10 mM y 75 mM, pH7) en una columna Superdex 200 aumento 10/300GL a temperatura ambiente y se registró la DO a 280 nm. Subsiguientemente, los constructos fueron comparados en cuanto a su tiempo de retención. Como resultado, el constructo D9F muestra una elución significativamente

demorada (Tabla 37) comparado con T2G, D3L, T7I y K6C, lo que indica una diferencia en la estructura/disposición de los dominios Fc. Esta diferencia en el tiempo de retención fue lo más significativa con el constructo T7I que tiene cisteínas no apareadas en la región bisagra y la unión de CH2 y CH2CH3 a CH3 (18,98 min vs. 18,62 min, diferencia de 0,36 min). Sin embargo, también la diferencia en tiempo de retención de 0,16 min entre D9F y T2G es significativa tomando en consideración el respectivo tiempo de retención del control BSA. El control BSA mostró un tiempo de retención de 19,07 min para el monómero y 16,82 min para el dímero exhibiendo una diferencia de 2,25 min en el tiempo de retención para un peso molecular duplicado. En consecuencia, como los constructos tienen solamente diferencias estructurales en la parte Fc, una diferencia de 0,16 min en el tiempo de retención es significativa. En resumen, el constructo D9F mostró el mayor tiempo de retención indicando la unión más fuerte. Esta conclusión conduce a la expectativa de que D9F tenga también la mayor vida media *in vivo*.

Tabla 37

Constructo	Tiempo de retención en min
D9F	18,98
T2G	18,82
D3L	18,78
K6C	18,77
T7I	18,62
monómero BSA	19,07
dímero BSA	16,82

[289] Ejemplo 19: Determinación de unión a FcRn humano (FCGRT/B2M) en base a Resonancia de Plasmones Superficiales

Los constructos D9F, T2G, D3L, T7I y K6C (Figura 6) fueron cada uno ensayados en cuanto a su capacidad de unirse contra FcRn humano en experimentos SPR (Biacore) de acuerdo con procedimientos estándar. En detalle, se inmovilizaron Chips Sensores CM5 (GE Healthcare) con 450-500 UR de FCGRT/B2M (ACRO Biosystems) utilizando buffer de acetato de sodio pH 4,5 y buffer de corrida consistente en HEPES 200 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, pH 6,0. Los constructos fueron entonces inyectados en subsiguientes corridas en dos

concentraciones de 250 nM y 125 nM diluidos en HEPES 200 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, pH 6,0 y 36°C. La asociación fue realizada durante 90 segundos con un caudal de 30 µl/min seguido por la fase de disociación de 90 segundos a un caudal de 30 µl/min en HEPES 200 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, pH 6,0 a 36°C. La subsiguiente regeneración fue realizada durante 10 seg con 30 µl/min con HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, pH 7,4.

La máxima unión durante la fase de inyección fue medida para todos los constructos como las respectivas unidades de respuesta (UR), equivalentes al incremento en masa molecular en el chip CM5 recubierto con FcRn debido a la unión del constructo. Todos los constructos fueron medidos por duplicado. Los valores promedio de las determinaciones por duplicado están descriptos en la Figura 7A y 7B, respectivamente.

Como resultado, el constructo D9F muestra un incremento en masa significativamente mayor en el chip CM5 recubierto con FcRn, comparado con T2G, D3L, T7I y K6C, lo cual indica afinidad de unión más fuerte de D9F a FcRn humano. Esta observación fue hecha para ambas concentraciones de los respectivos constructos.

La unión contra FcRn es mediada a través de la porción Fc dentro de los constructos. Una unión más fuerte contra FcRn humano como se describe en la literatura es un indicador de vida media más larga *in vivo* debido a un mayor rescate intracelular de la respectiva proteína y en consecuencia una reducida tasa de degradación. Por este motivo, una unión más fuerte de D9F a FcRn humano comparado con los otros constructos hace a esta molécula claramente superior como una base para que moléculas terapéuticas permitan una exposición más larga de la droga potencial en el paciente y una menor frecuencia de administración de la droga.

[290] Ejemplo 20: Determinación de unión a FcRn humano (FCGRT/B2M) en base a Resonancia de Plasmones Superficiales

Los constructos D9F, T2G, D3L, T7I y K6C y un anticuerpo MT201 IgG1-kappa humano fueron cada uno ensayado en cuanto a su capacidad de unirse contra FcRn humano en experimentos SPR (Biacore) de acuerdo con procedimientos estándar. En detalle, se inmovilizaron Chips Sensores CM5 (GE Healthcare) con aproximadamente 350 UR de FCGRT/B2M (ACRO Biosystems) utilizando buffer de acetato de sodio pH 4,5 y buffer de corrida consistente en HEPES 200 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, pH 6,0. Los constructos y el control IgG1-kappa (MT201) fueron entonces inyectados a una concentración de 125 nM diluidos en HEPES 200 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, pH 6,0 y 36°C. La asociación fue realizada durante 90 segundos con un caudal de 30 µl/min seguido por la fase de disociación de 60 segundos a un caudal de 30 µl/min en HEPES 200 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, pH 6,0 a 36°C. La

subsiguiente regeneración fue realizada durante 10 seg con 30 µl/min con HEPES 10 mM, NaCl 150 mM, EDTA 3 mM, pH 7,4.

La máxima unión durante la fase de inyección fue medida para todos los constructos como las respectivas unidades de respuesta (UR), equivalentes al incremento en masa molecular en el chip CM5 recubierto con FcRn debido a la unión del constructo. Todos los constructos fueron medidos por duplicado. Los valores promedio de las determinaciones por duplicado están descriptos en la Figura 8, incluyendo barras de error de desviación estándar.

Como resultado, el constructo D9F muestra un incremento en masa significativamente mayor en el chip CM5 recubierto con FcRn, comparado con T2G, D3L, T7I y K6C, lo cual indica afinidad de unión más fuerte de D9F a FcRn humano. El incremento de masa del chip CM5 recubierto con FcRn para D9F es bien comparable con el incremento de masa del anticuerpo MT201 IgG1-kappa humano de control, indicando una unión comparable del constructo D9F a FcRn humano.

La unión contra FcRn es mediada a través de la porción Fc IgG1 humano dentro de los constructos. Una unión más fuerte contra FcRn humano como se describe en el campo es un indicador de vida media más larga *in vivo* debido a un mayor rescate intracelular de la respectiva proteína y en consecuencia reducida tasa de degradación. Por este motivo, una unión más fuerte de D9F a FcRn humano en el rango de un anticuerpo IgG1-kappa humano (MT201), comparado con los otros constructos hace a esta molécula claramente superior como una base para que moléculas terapéuticas permitan una exposición más larga de la droga potencial en el paciente, presumiblemente en el rango de un anticuerpo completo IgG1 humano, y una menor frecuencia de administración de la droga.

Tabla 38: Tabla de Secuencias

SEQ ID NO:	Designación	Formato / Fuente	Secuencia
1.	enlazador G4S		GGGGS
2.	enlazador (G4S)2		GGGGS GGGGS
3.	enlazador (G4S)3		GGGGS GGGGS GGGGS
4.	enlazador (G4S)4		GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS
5.	enlazador (G4S)5		GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS
6.	enlazador (G4S)6		GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS
7.	enlazador (G4S)7		GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS
8.	enlazador (G4S)8		GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS
9.	Enlazador peptídico		P GGGGS
10.	Enlazador peptídico		P GGDGS
11.	Enlazador peptídico		S GGGGS
12.	Enlazador peptídico		G GGGG
13.	VL que se une a CD3ε		QTVVTQEPSTLVSPGGT VTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQ QKPGQAP RGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVL WYSNRWVFGGGTKLTVL
14.	VH que se une a CD3ε		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLE WVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTED TAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGLTVTVSS
15.	scFv que se une a CD3ε		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYAMNWVRQAPGKGLE WVARIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTED TAVYYCVRHGNFGNSYVSWWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGG GSQTVVTQEPSTLVSPGGT VTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQ QKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGGTKLTVL
16.	etiqueta hexa-histidina		HHHHHH
17.	monómero Fc -1 +c/-g		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
18.	monómero Fc -2 +c/-g/delGK		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSP
19.	monómero Fc -3 -c/+g		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM

			TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
20.	monómero Fc -4 -c/+g/delGK		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP
21.	monómero Fc -5 -c/-g		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
22.	monómero Fc -6 -c/-g/delGK		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP
23.	monómero Fc -7 +c/+g		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
24.	monómero Fc -8 +c/+g/delGK		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP
25.	scFc-1		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNQKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
26.	scFc-2		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGG GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNQKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSP
27.	scFc-3		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNQKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

28.	scFc-4		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSP
29.	scFc-5		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
30.	scFc-6		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSP
31.	scFc-7		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
32.	scFc-8		DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQD WLNQKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYNSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSP
33.	Diana A-HLE	Hetero Fc cadena 1	QVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTFSDYYMTWIRQAPGKGLE WLSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKSLFLQMNSLRAEDTA VYYCARDRNSHFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQ SPSSVSASVGRVTITCRASQGINTWLAWYQQKPGKAPKLLIYGAS GLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAQSFPRTF GGGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNK

			YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTV SSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSGSTGAV TSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKHTCPP CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLKSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
34.	Diana A -HLE	Hetero Fc cadena 2	DKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQD WLNKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPVLDSGDSF FLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
35.	Diana A -HLE	fusión hALB	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMTWIRQAPGKGLE WLSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLFLQMNSLRAEDTA VYYCARDNRNSHFYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQ SPSSVSASVGDRVTITCRASQGINTWLAWYQQKPGKAPKLLIYGAS GLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQAKSFPRTF GQGTKEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNK YAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTV SSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSGSTGAV TSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAAL TLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLPGGDGS DAHKSE VAHRFKDLGEENFKALVLI AFAQYLQCCPFEDHVKLVNEVTEFAKT CVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMTFLCKAKYQEPER NECFLQHKDDNPNLPRLVPEVDVMCTAFHDNEETFLKDLLEYE IAR RHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTGCCQAADKAACLLPKLDELRLDEGK ASSAKQRLKCSLQKFGERAFAKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVT DLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKP LLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG MFLYEYARRHPDYSVLLLR LAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVF DEFKPLVEEPQNLIKQNCLEFQELGEYKFQNALLVRYTKKVPQVST PTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEK TPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHAD ICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKC CKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLHHHHHH
36.	Diana B-HLEa	X-body cadena 1	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLE WVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTED TAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSSYE LTQPPSVSVSPGQTASITCSGDRLEGEKYSWYQQRPGQSPLLVIYQ DTKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTV VFGGGTKLTVLASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTY ICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYDTTPVLDSGDSFFLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
37.	Diana B - HLEb	X-body cadena 2	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAFIWEYSNKKYAEVSKDRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQGTITVTVSSGGGSGGGGSGTQ VTQEPSTVSPGGTVTLTCSGSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGL IGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYS NRWVFGGGTKLTVLQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISD FYPGAFTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECSDKTHTCPPCPAPPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV

			HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVVKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
38.	Diana B -HLE	Hetero Fc cadena 1	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAFIWEYEGSNKYIAESVKDRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQGT TTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSSYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDR LGEKYTSWYQQRPQGSPSLVIYQDTKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVVFGGGTKLTVLSSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLGSGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQY GSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVVKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
39.	Diana B -HLE	Hetero Fc cadena 2	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQY GSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPVLDSDGSF FLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
40.	Diana C-HLE	Hetero Fc cadena 1	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQCLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYVYFDYWGQGTSTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNLSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQQSAHFPIITFGCGTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQY GSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVVKSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
41.	Diana C -HLE	Hetero Fc cadena 2	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQY GSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRKEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYDTTPVLDSDGSF FLYSDLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
42.	PM_1xCD3-scFc	CDR1 de VH	DYYMN
43.	PM_1xCD3-scFc	CDR2 de VH	IISDGGYYTYYSDIKIG
44.	PM_1xCD3-scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
45.	PM_1xCD3-scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA

46.	PM_1xCD3-scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
47.	PM_1xCD3-scFc	CDR3 de VL	QQYDSYPYT
48.	PM_1xCD3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSS
49.	PM_1xCD3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI LIYSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLT ISSLQSEDFATYYCQQYD SYPYTFGGGT KLEIK
50.	PM_1xCD3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLT ISSLQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGGT KLEIK
51.	PM_1xCD3-scFc	molécula bienespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLT ISSLQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGGT KLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
52.	PM_1xCD3-scFc	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLT ISSLQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGGT KLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
53.	PM_1xCD3-scFc_delGK	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLT ISSLQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGGT KLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG

			KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
54.	PM_1_CCxC D3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMNWVRQAPGKCLE WVAII SDGGYYTYYSDI IKGRTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGTLVTVSS
55.	PM_1_CCxC D3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI LIYSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYD SYPTFGCGTKLEIK
56.	PM_1_CCxC D3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMNWVRQAPGKCLE WVAII SDGGYYTYYSDI IKGRTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIK
57.	PM_1_CCxC D3-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMNWVRQAPGKCLE WVAII SDGGYYTYYSDI IKGRTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
58.	PM_1_CCxC D3-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMNWVRQAPGKCLE WVAII SDGGYYTYYSDI IKGRTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTCPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
59.	PM_1_CCxC D3-scFc_delGK	molécula HLE	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMNWVRQAPGKCLE WVAII SDGGYYTYYSDI IKGRTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI

		biespecífica	YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG TKLTVLGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
60.	PM_2xCD3-scFc	CDR1 de VH	DYYMY
61.	PM_2xCD3-scFc	CDR2 de VH	IISDAGGLTYYS DI IKG
62.	PM_2xCD3-scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
63.	PM_2xCD3-scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
64.	PM_2xCD3-scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
65.	PM_2xCD3-scFc	CDR3 de VL	QQYDSYPYT
66.	PM_2xCD3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKPGESLRLS CAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKGLE WVAIISDAGGLTYYS DI IKG RFTISRDN AKNSLYLQINSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLTVTVSS
67.	PM_2xCD3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQYDSY SYPYTFGGG TKLEIK
68.	PM_2xCD3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKPGESLRLS CAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKGLE WVAIISDAGGLTYYS DI IKG RFTISRDN AKNSLYLQINSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGG TKLEIK
69.	PM_2xCD3-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLS CAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKGLE WVAIISDAGGLTYYS DI IKG RFTISRDN AKNSLYLQINSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGG TKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG TKLTVL

81.	PM_3xCD3-scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
82.	PM_3xCD3-scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
83.	PM_3xCD3-scFc	CDR3 de VL	QQYDDL RPT
84.	PM_3xCD3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDAGGLTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQINSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLTVTVSS
85.	PM_3xCD3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI LIYSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYD DLRPTFGGGTKLEIK
86.	PM_3xCD3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDAGGLTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQINSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGGGTKLEIK
87.	PM_3xCD3-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDAGGLTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQINSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
88.	PM_3xCD3-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDAGGLTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQINSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
89.	PM_3xCD3-scFc_delGK	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDAGGLTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQINSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS

			RDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
90.	PM_3_CCxC D3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAIISDAGGLTYYSDI IKGRFTISRDN AKNSLYLQINSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSS
91.	PM_3_CCxC D3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKS LIYSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SLQSEDFATYYCQQYD DLRPTFGCGTKLEIK
92.	PM_3_CCxC D3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAIISDAGGLTYYSDI IKGRFTISRDN AKNSLYLQINSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGCGTKLEIK
93.	PM_3_CCxC D3-scFc	molécula bienespecífi ca	QVQLVESGGGLVKPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAIISDAGGLTYYSDI IKGRFTISRDN AKNSLYLQINSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
94.	PM_3_CCxC D3-scFc	molécula HLE bienespecífi ca	QVQLVESGGGLVKPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAIISDAGGLTYYSDI IKGRFTISRDN AKNSLYLQINSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTCPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK KPCCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

95.	PM_3_CCxC D3- scFc_delIGK	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDAGGLTYYSDDIIKGRFTISRDNANKSLYLQINSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
96.	PM_4xCD3- scFc	CDR1 de VH	DYYMY
97.	PM_4xCD3- scFc	CDR2 de VH	IISDHYSHTYYSDIIKD
98.	PM_4xCD3- scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
99.	PM_4xCD3- scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
100.	PM_4xCD3- scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
101.	PM_4xCD3- scFc	CDR3 de VL	QQYDSYPYT
102.	PM_4xCD3- scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNANKSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSS
103.	PM_4xCD3- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI LIYSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYD SYPYTFGGGTKLEIK
104.	PM_4xCD3- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNANKSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGGTKLEIK
105.	PM_4xCD3- scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNANKSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT

			LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
106.	PM_4xCD3-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRSLCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
107.	PM_4xCD3-scFc_delGK	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRSLCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGG GGGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
108.	PM_4_CCxC D3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKPGESLRSLCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLTVSS
109.	PM_4_CCxC D3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKS LIYSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYD SYPYTFGCGTKLEIK
110.	PM_4_CCxC D3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKPGESLRSLCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIK

111.	PM_4_CCxC D3-scFc	molécula bienespecífica	QVQLVESGGGLVQPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSRVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
112.	PM_4_CCxC D3-scFc	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVQPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSRVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGG GGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
113.	PM_4_CCxC D3- scFc_delGK	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVQPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDHYSHTYYSDIIKDRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSRVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
114.	PM_5xCD3- scFc	CDR1 de VH	DYYMY
115.	PM_5xCD3- scFc	CDR2 de VH	IISDKRHHTYYSDIIKG

116.	PM_5xCD3-scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
117.	PM_5xCD3-scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
118.	PM_5xCD3-scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
119.	PM_5xCD3-scFc	CDR3 de VL	QQYDSYPYT
120.	PM_5xCD3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSS
121.	PM_5xCD3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI LIYSASYRYSVDVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYD SYPYTFGGGTKEIK
122.	PM_5xCD3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVDVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGGTKEIK
123.	PM_5xCD3-scFc	molécula bienespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVDVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGGTKEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
124.	PM_5xCD3-scFc	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVDVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGGTKEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPGPCAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFIYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPGPCAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFIYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MEALHNHYTQKSLSLSPGK
125.	PM_5xCD3-scFc_delGK	molécula HLE	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI

		biespecífica	YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGG TKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGA VTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG GGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
126.	PM_5_CCxC D3-scFc	VH	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSS
127.	PM_5_CCxC D3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKS LIYSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQYD SYPYTFGCGTKLEIK
128.	PM_5_CCxC D3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGD RVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIK
129.	PM_5_CCxC D3-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGD RVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGA VTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL
130.	PM_5_CCxC D3-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGD RVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGA VTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG KGGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW

			ESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
131.	PM_5_CCxC D3- scFc_delGK	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGG TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGG KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
132.	PM_6xCD3- scFc	CDR1 de VH	DYYMY
133.	PM_6xCD3- scFc	CDR2 de VH	IISDKRHHTYYSDIIKG
134.	PM_6xCD3- scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
135.	PM_6xCD3- scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
136.	PM_6xCD3- scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
137.	PM_6xCD3- scFc	CDR3 de VL	QQYDDL RPT
138.	PM_6xCD3- scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLTVSS
139.	PM_6xCD3- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKS LIYSASYRYSQVPSRFSGSASGDTFTLTISLQSEDFATYYCQQYD DLRPTFGGGTKLEIK
140.	PM_6xCD3- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGDTFTLTISLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGGGTKLEIK
141.	PM_6xCD3- scFc	molécula bienespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGDTFTLTISLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF

			TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
142.	PM_6xCD3- scFc	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVKKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDNANKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGIFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MEALHNHYTQKSLSLSPGK
143.	PM_6xCD3- scFc_delIGK	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVKKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDNANKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGIFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
144.	PM_6_CCxC D3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDNANKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSS
145.	PM_6_CCxC D3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGCGTKLEIK
146.	PM_6_CCxC D3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDNANKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGCGTKLEIK

147.	PM_6_CCxC D3-scFc	molécula bienespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
148.	PM_6_CCxC D3-scFc	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGG GGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
149.	PM_6_CCxC D3-scFc_delGK	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDKRHHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
150.	PM_7xCD3- scFc	CDR1 de VH	DYYMY
151.	PM_7xCD3- scFc	CDR2 de VH	IISDGGYYTYSDIIKG

152.	PM_7xCD3-scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
153.	PM_7xCD3-scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
154.	PM_7xCD3-scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
155.	PM_7xCD3-scFc	CDR3 de VL	QQYDQQLIT
156.	PM_7xCD3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSS
157.	PM_7xCD3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSQVPSRFRSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIK
158.	PM_7xCD3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSQVPSRFRSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIK
159.	PM_7xCD3-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSQVPSRFRSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
160.	PM_7xCD3-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSQVPSRFRSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKHTCPCPCAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKHTCPCPCAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
161.	PM_7xCD3-scFc_delGK	molécula HLE	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI

		biespecífica	YSASYRYSADVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
162.	PM_7_CCxC D3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCLASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLTVSS
163.	PM_7_CCxC D3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YASASYRYSADVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYD QQITFGCGTKLEIK
164.	PM_7_CCxC D3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCLASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGSGGGSGGSDI QMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YASASYRYSADVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGCGTKLEIK
165.	PM_7_CCxC D3-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCLASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGSGGGSGGSDI QMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YASASYRYSADVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
166.	PM_7_CCxC D3-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCLASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGSGGGSGGSDI QMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YASASYRYSADVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW

			ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
167.	PM_7_CCxC D3- scFc_delGK	molécula HLE biespecífi ca	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDI TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDI KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
168.	PM_8xCD3- scFc	CDR1 de VH	DYYMY
169.	PM_8xCD3- scFc	CDR2 de VH	IISDGGYYTYYSDDIIKG
170.	PM_8xCD3- scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
171.	PM_8xCD3- scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
172.	PM_8xCD3- scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
173.	PM_8xCD3- scFc	CDR3 de VL	QQYDQVRLT
174.	PM_8xCD3- scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSS
175.	PM_8xCD3- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKS LIYSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYD QVRLTFGGGKLEIK
176.	PM_8xCD3- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQV RLTFGGGKLEIK
177.	PM_8xCD3- scFc	molécula biespecífi ca	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQV RLTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF

			TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
178.	PM_8xCD3- scFc	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVKKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNANKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQV RLTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
179.	PM_8xCD3- scFc_delGK	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVKKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNANKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQV RLTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
180.	PM_8_CCxC D3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNANKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSS
181.	PM_8_CCxC D3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQV QVRLTFGCGTKLEIK
182.	PM_8_CCxC D3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNANKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQV RLTFGCGTKLEIK

183.	PM_8_CCxC D3-scFc	molécula bienespecífica	QVQLVESGGGLVQPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQV RLTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
184.	PM_8_CCxC D3-scFc	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVQPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQV RLTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGG GGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
185.	PM_8_CCxC D3- scFc_delGK	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVQPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQV RLTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
186.	PM_9xCD3- scFc	CDR1 de VH	DYYMN
187.	PM_9xCD3- scFc	CDR2 de VH	IISDGGYYTYYSDDIIKG

188.	PM_9xCD3-scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
189.	PM_9xCD3-scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
190.	PM_9xCD3-scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
191.	PM_9xCD3-scFc	CDR3 de VL	QQYDDL RPT
192.	PM_9xCD3-scFc	VH	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMNWVRQAPGKGLE WVAII SDGGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSS
193.	PM_9xCD3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI LIYSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLTIS SLQSEDFATYYCQQYD DLRPTFGGGTKLEIK
194.	PM_9xCD3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMNWVRQAPGKGLE WVAII SDGGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLTIS SLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGGGTKLEIK
195.	PM_9xCD3-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMNWVRQAPGKGLE WVAII SDGGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLTIS SLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
196.	PM_9xCD3-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMNWVRQAPGKGLE WVAII SDGGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLTIS SLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
197.	PM_9xCD3-scFc_delGK	molécula HLE	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMNWVRQAPGKGLE WVAII SDGGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI

		biespecífica	YSASYRYS DVPSRFGSGSASGTDFTLTIS SLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV M EALHNHYTQKSLSLSPGK
198.	PM_9_CCxC D3-scFc	VH	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYIMNWVRQAPGKCLE WVAII SDGGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGF PLLRHGAMDYWGQ GTLVT VSS
199.	PM_9_CCxC D3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI LIYSASYRYS DVPSRFGSGSASGTDFTLTIS SLQSEDFATYYCQQYD DLRPTFGCGTKLEIK
200.	PM_9_CCxC D3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYIMNWVRQAPGKCLE WVAII SDGGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGF PLLRHGAMDYWGQ GTLVT VSSGGGGSGGGSGGGSGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFGSGSASGTDFTLTIS SLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGCGTKLEIK
201.	PM_9_CCxC D3-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYIMNWVRQAPGKCLE WVAII SDGGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGF PLLRHGAMDYWGQ GTLVT VSSGGGGSGGGSGGGSGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFGSGSASGTDFTLTIS SLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL
202.	PM_9_CCxC D3-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYIMNWVRQAPGKCLE WVAII SDGGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGF PLLRHGAMDYWGQ GTLVT VSSGGGGSGGGSGGGSGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFGSGSASGTDFTLTIS SLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG KGGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW

			ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
203.	PM_9_CCxC D3- scFc_delGK	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYIMNWRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGDTFTLTISLQSEDFATYYCQQYDDL RPTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MH EALHNHYTQKSLSLSPGK
204.	PM_10xCD3- scFc	CDR1 de VH	DYYMY
205.	PM_10xCD3- scFc	CDR2 de VH	IISDH HHWTYYSDI IKG
206.	PM_10xCD3- scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
207.	PM_10xCD3- scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
208.	PM_10xCD3- scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
209.	PM_10xCD3- scFc	CDR3 de VL	QQYDSYPYT
210.	PM_10xCD3- scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYIMYWRQAPGKGLE WVAIIISDH HHWTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSS
211.	PM_10xCD3- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKS LIYSASYRYS DVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYD SYPYTFGGG TKLEIK
212.	PM_10xCD3- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYIMYWRQAPGKGLE WVAIIISDH HHWTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGG TKLEIK
213.	PM_10xCD3- scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDYIMYWRQAPGKGLE WVAIIISDH HHWTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGG TKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF

			TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTCLTVL
214.	PM_10xCD3- scFc	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDHHHWTYYSDIIKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGGTKEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTCLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MEALHNHYTQKSLSLSPGK
215.	PM_10xCD3- scFc_delGK	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDHHHWTYYSDIIKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGGTKEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTCLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
216.	PM_10_CCxC D3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDHHHWTYYSDIIKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSS
217.	PM_10_CCxC D3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGGTKEIK
218.	PM_10_CCxC D3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDHHHWTYYSDIIKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGGTKEIK

219.	PM_10_CCxC D3-scFc	molécula bienespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDHHHWYIYSDIIKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
220.	PM_10_CCxC D3-scFc	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDHHHWYIYSDIIKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGG GGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
221.	PM_10_CCxC D3- scFc_delGK	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDHHHWYIYSDIIKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
222.	PM_11xCD3- scFc	CDR1 de VH	DYYMY
223.	PM_11xCD3- scFc	CDR2 de VH	IISDGGYYTYSDIIKG

224.	PM_11xCD3-scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
225.	PM_11xCD3-scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
226.	PM_11xCD3-scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
227.	PM_11xCD3-scFc	CDR3 de VL	QQYDRQPLT
228.	PM_11xCD3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSS
229.	PM_11xCD3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSQVPSRFRSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDRQPLTFGGGKLEIK
230.	PM_11xCD3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSQVPSRFRSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDRQPLTFGGGKLEIK
231.	PM_11xCD3-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSQVPSRFRSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDRQPLTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
232.	PM_11xCD3-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSQVPSRFRSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDRQPLTFGGGKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
233.	PM_11xCD3-scFc_delGK	molécula HLE	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI

		biespecífica	YSASYRYS DVPSRFGSGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQQYDRQ PLTFGGG TKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV M EALHNHYTQKSLSLSPGK
234.	PM_11_CCxC D3-scFc	VH	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAII SDGGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGF PLLRHGAM DYWGQGT LVTVSS
235.	PM_11_CCxC D3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI LIYSASYRYS DVPSRFGSGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQQYD RQPLTFGCGTKLEIK
236.	PM_11_CCxC D3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAII SDGGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGF PLLRHGAM DYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFGSGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQQYDRQ PLTFGCGTKLEIK
237.	PM_11_CCxC D3-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAII SDGGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGF PLLRHGAM DYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFGSGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQQYDRQ PLTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL
238.	PM_11_CCxC D3-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAII SDGGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGF PLLRHGAM DYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFGSGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQQYDRQ PLTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW

			ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
239.	PM_11_CCxC D3- scFc_delGK	molécula HLE biespecífi ca	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGDTFTLTISLVQSEDFATYYCQQYDRQ PLTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDI TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDI KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHE EALHNHYTQKSLSLSPGK
240.	PM_12xCD3- scFc	CDR1 de VH	DYYMN
241.	PM_12xCD3- scFc	CDR2 de VH	IISDGGYYTYYSDDIIKG
242.	PM_12xCD3- scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
243.	PM_12xCD3- scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
244.	PM_12xCD3- scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
245.	PM_12xCD3- scFc	CDR3 de VL	QQYDLLLLLT
246.	PM_12xCD3- scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMNWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSS
247.	PM_12xCD3- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKS LIYSASYRYSQVPSRFSGSASGDTFTLTISLVQSEDFATYYCQQYD LLLLTFGGGTKLEIK
248.	PM_12xCD3- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMNWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGDTFTLTISLVQSEDFATYYCQQYDLL LLTFGGGTKLEIK
249.	PM_12xCD3- scFc	molécula biespecífi ca	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMNWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGDTFTLTISLVQSEDFATYYCQQYDLL LLTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF

			TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTCLTVL
250.	PM_12xCD3- scFc	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVKKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYMNWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDLL LLTFGGGKTLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTCLTVLGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
251.	PM_12xCD3- scFc_delGK	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVKKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYMNWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDLL LLTFGGGKTLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTCLTVLGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
252.	PM_12_CCxC D3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYMNWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSS
253.	PM_12_CCxC D3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKS LIYSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYD LLLLTFGCGTKLEIK
254.	PM_12_CCxC D3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKKPGESLRSLSCAASGFTFSDDYMNWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDLL LLTFGCGTKLEIK

255.	PM_12_CCxC D3-scFc	molécula bienespecífica	QVQLVESGGGLVQPGESLRSLSCAASGFTFSDYIMNWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSIDIIGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDLL LLTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
256.	PM_12_CCxC D3-scFc	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVQPGESLRSLSCAASGFTFSDYIMNWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSIDIIGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDLL LLTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
257.	PM_12_CCxC D3-scFc_delGK	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVQPGESLRSLSCAASGFTFSDYIMNWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSIDIIGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDLL LLTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
258.	PM_13xCD3- scFc	CDR1 de VH	DYYMY
259.	PM_13xCD3- scFc	CDR2 de VH	IISDSTLHTYYSDIIGK

260.	PM_13xCD3-scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
261.	PM_13xCD3-scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
262.	PM_13xCD3-scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
263.	PM_13xCD3-scFc	CDR3 de VL	QQYDSYPYT
264.	PM_13xCD3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIIISDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSS
265.	PM_13xCD3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSQVPSRFRSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSYPYTFGGGTKEIK
266.	PM_13xCD3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIIISDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSQVPSRFRSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSYPYTFGGGTKEIK
267.	PM_13xCD3-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIIISDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSQVPSRFRSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSYPYTFGGGTKEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
268.	PM_13xCD3-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIIISDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSQVPSRFRSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSYPYTFGGGTKEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
269.	PM_13xCD3-scFc_delGK	molécula HLE	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIIISDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI

		biespecífica	YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGG TKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
270.	PM_13_CCxC D3-scFc	VH	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAII SDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSS
271.	PM_13_CCxC D3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGD RVTITCKASQNVD TNVAWYQQKPGQAPKS LIYSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQYD SYPYTFGCGTKLEIK
272.	PM_13_CCxC D3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAII SDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGD RVTITCKASQNVD TNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIK
273.	PM_13_CCxC D3-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAII SDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGD RVTITCKASQNVD TNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL
274.	PM_13_CCxC D3-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAII SDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGD RVTITCKASQNVD TNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS CAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW

			ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
275.	PM_13_CCxC D3- scFc_delGK	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDSTLHTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSDTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KAALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSDTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MH EALHNHYTQKSLSLSPGK
276.	PM_14xCD3- scFc	CDR1 de VH	DYYMY
277.	PM_14xCD3- scFc	CDR2 de VH	IISDGGYYTYYSDDIIKG
278.	PM_14xCD3- scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
279.	PM_14xCD3- scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
280.	PM_14xCD3- scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
281.	PM_14xCD3- scFc	CDR3 de VL	QQYDAPMGT
282.	PM_14xCD3- scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSS
283.	PM_14xCD3- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKS LIYSASYRYS DVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYD APMGTFGGGTKLEIK
284.	PM_14xCD3- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDAP MGTFGGGTKLEIK
285.	PM_14xCD3- scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDAP MGTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF

			TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTCLTVL
286.	PM_14xCD3- scFc	molécula HLE bienespecífi ca	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNANKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQYDAP MGTFGGGKTLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTCLTVLGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGIFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
287.	PM_14xCD3- scFc_delGK	molécula HLE bienespecífi ca	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNANKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQYDAP MGTFGGGKTLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTCLTVLGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGIFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
288.	PM_14_CCxC D3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNANKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSS
289.	PM_14_CCxC D3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQYDAP APMGTFGCGTKLEIK
290.	PM_14_CCxC D3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNANKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQYDAP MGTFGCGTKLEIK

291.	PM_14_CCxC D3-scFc	molécula bienespecífica	QVQLVESGGGLVQPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDAP MGTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
292.	PM_14_CCxC D3-scFc	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVQPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDAP MGTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGG GGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
293.	PM_14_CCxC D3- scFc_delGK	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVQPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDAP MGTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
294.	PM_15xCD3- scFc	CDR1 de VH	DYYMN
295.	PM_15xCD3- scFc	CDR2 de VH	IISDNKHQTYYSDDIIKG

296.	PM_15xCD3-scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
297.	PM_15xCD3-scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
298.	PM_15xCD3-scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
299.	PM_15xCD3-scFc	CDR3 de VL	QQYDSYPYT
300.	PM_15xCD3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMNWVRQAPGKGLEWVAIIISDNKHQTYYSDDIKGRFAISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSS
301.	PM_15xCD3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSQVPSRFSGSASGDTFTLTISLQSEDFATYYCQQYDSYPYTFGGGTKEIK
302.	PM_15xCD3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMNWVRQAPGKGLEWVAIIISDNKHQTYYSDDIKGRFAISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSQVPSRFSGSASGDTFTLTISLQSEDFATYYCQQYDSYPYTFGGGTKEIK
303.	PM_15xCD3-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMNWVRQAPGKGLEWVAIIISDNKHQTYYSDDIKGRFAISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSQVPSRFSGSASGDTFTLTISLQSEDFATYYCQQYDSYPYTFGGGTKEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
304.	PM_15xCD3-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMNWVRQAPGKGLEWVAIIISDNKHQTYYSDDIKGRFAISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSQVPSRFSGSASGDTFTLTISLQSEDFATYYCQQYDSYPYTFGGGTKEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
305.	PM_15xCD3-scFc_delGK	molécula HLE	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYMNWVRQAPGKGLEWVAIIISDNKHQTYYSDDIKGRFAISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI

		biespecífica	YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGG TKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGG TKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
306.	PM_15_CCxC D3-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKPGESLRLS CAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCLE WVAII SDNKHQTYYS DI IKGRFAISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSS
307.	PM_15_CCxC D3-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKS LIYSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYD SYPYTFGCGTKLEIK
308.	PM_15_CCxC D3-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKPGESLRLS CAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCLE WVAII SDNKHQTYYS DI IKGRFAISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIK
309.	PM_15_CCxC D3-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLS CAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCLE WVAII SDNKHQTYYS DI IKGRFAISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGG TKLTVL
310.	PM_15_CCxC D3-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLS CAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCLE WVAII SDNKHQTYYS DI IKGRFAISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGTDFTLTISLQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGG TKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW

			ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
311.	PM_15_CCxC D3- scFc_delGK	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVKGPGESLRLSCAASGFTFSDYYMNWVRQAPGKCLE WVAIIISDNKHQTYYSIDIIGRFAISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVDPSRFSGSASGDTFTLTISLQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGQTVVTQEPSTLTVSPGGTFTLTTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
312.	PM 76- B10.02 CC x I2C0-scFc	CDR1 de VH	DYYMY
313.	PM 76- B10.02 CC x I2C0-scFc	CDR2 de VH	IISDAGYYTYYSIDIIG
314.	PM 76- B10.02 CC x I2C0-scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
315.	PM 76- B10.02 CC x I2C0-scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
316.	PM 76- B10.02 CC x I2C0-scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
317.	PM 76- B10.02 CC x I2C0-scFc	CDR3 de VL	QQYESYPYT
318.	PM 76- B10.02 CC x I2C0-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKGPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDAGYYTYYSIDIIGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSS
319.	PM 76- B10.02 CC x I2C0-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI LIYSASYRYSVDPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYE SYPYTFGCGTKLEIK
320.	PM 76- B10.02 CC x I2C0-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKGPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDAGYYTYYSIDIIGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVDPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYESY PYTFGCGTKLEIK

321.	PM 76- B10.02 CC x I2C0-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVQPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDAGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYESY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
322.	PM 76- B10.02 CC x I2C0-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVQPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDAGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYESY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGG GGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP KCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
323.	PM 76- B10.02 CC x I2C0- scFc_delGK	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVQPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDAGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYESY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGG GGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
324.	PM 76- B10.02 CC x I2C0 CC (103/43)- scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVQPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDAGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYESY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF

			TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
325.	PM 76- B10.02 CC x I2C0 CC (103/43)- scFc	molécula HLE biespecífi ca	QVQLVESGGGLVKGPGESLRLSCAASGFTFSDDYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDAGYYTYYSDIKGRFTISRDNANKSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQYQYESY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGIFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
326.	PM 76- B10.02 CC x I2C0 CC (103/43)- scFc_delGK	molécula HLE biespecífi ca	QVQLVESGGGLVKGPGESLRLSCAASGFTFSDDYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDAGYYTYYSDIKGRFTISRDNANKSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQYQYESY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGIFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGIFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
327.	PM 76- B10.08 x I2C0-scFc	CDR1 de VH	DYYMY
328.	PM 76- B10.08 x I2C0-scFc	CDR2 de VH	IISDGGYYTYYSDIKKG
329.	PM 76- B10.08 x I2C0-scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY

330.	PM 76-B10.08 x I2C0-scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
331.	PM 76-B10.08 x I2C0-scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
332.	PM 76-B10.08 x I2C0-scFc	CDR3 de VL	QQYDQQLIT
333.	PM 76-B10.08 x I2C0-scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSS
334.	PM 76-B10.08 x I2C0-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI LIYSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYD QQLITFGGGTKLEIK
335.	PM 76-B10.08 x I2C0-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQ LITFGGGTKLEIK
336.	PM 76-B10.08 x I2C0-scFc	molécula bienespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQ LITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
337.	PM 76-B10.08 x I2C0-scFc	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVP SRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQ LITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDKTH TCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
338.	PM 76-B10.08 x	molécula HLE	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI

	I2C0-scFc_delGK	biespecífica	YSASYRYSADVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTED339TAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWG QGT LVT VSSGGGSGGGGSGGGGSGT VVTQEP SLTVSPGGTVTLT C GSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSL LGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
339.	PM 76-B10.08 x I2C0 CC (103/43)-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAII SDGGYYTYYSDI IKG RFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVT VSSGGGSGGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSADVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LVT VSSGGGSGGGGSGGGGSGT VVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQCP RGLIGG TKFLAPGTPARFSGSL LGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
340.	PM 76-B10.08 x I2C0 CC (103/43)-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAII SDGGYYTYYSDI IKG RFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVT VSSGGGSGGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSADVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LVT VSSGGGSGGGGSGGGGSGT VVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQCP RGLIGG TKFLAPGTPARFSGSL LGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
341.	PM 76-B10.08 x I2C0 CC (103/43)-scFc_delGK	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAII SDGGYYTYYSDI IKG RFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVT VSSGGGSGGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSADVPSRFRSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LVT VSSGGGSGGGGSGGGGSGT VVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQCP RGLIGG TKFLAPGTPARFSGSL LGG

			KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQD342W LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSG GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
342.	PM 76- B10.08 CC x I2C0-scFc	CDR1 de VH	DYYMY
343.	PM 76- B10.08 CC x I2C0-scFc	CDR2 de VH	IISDGGYYTYYSDIKKG
344.	PM 76- B10.08 CC x I2C0-scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
345.	PM 76- B10.08 CC x I2C0-scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
346.	PM 76- B10.08 CC x I2C0-scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
347.	PM 76- B10.08 CC x I2C0-scFc	CDR3 de VL	QQYDQQLIT
348.	PM 76- B10.08 CC x I2C0-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSS
349.	PM 76- B10.08 CC x I2C0-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLIT FGCGTKLEIK
350.	PM 76- B10.08 CC x I2C0-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLIT FGCGTKLEIK
351.	PM 76- B10.08 CC x I2C0-scFc	molécula bienespecífica	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLIT FGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSG GGGSGTQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQ APRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
352.	PM 76- B10.08 CC x I2C0-scFc	molécula HLE	QVQLVESGGGLVKKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIISDGGYYTYYSDIKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI

			TGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GG PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
356.	PM 76- B10.08 CC x I2C0 CC (103/43)- scFc_delGK	molécula HLE bienespecífi ca	QVQLVESGGGLVKPGESLRSLCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLTVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LTVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTTLTTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGSGGGG SGGG KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
357.	PM 76- B10.11 x I2C0-scFc	CDR1 de VH	DYYMY
358.	PM 76- B10.11 x I2C0-scFc	CDR2 de VH	IISDGGYYTYYSDDIIKG
359.	PM 76- B10.11 x I2C0-scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
360.	PM 76- B10.11 x I2C0-scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
361.	PM 76- B10.11 x I2C0-scFc	CDR2 de VL	SASYVYW
362.	PM 76- B10.11 x I2C0-scFc	CDR3 de VL	QQYDQQLIT
363.	PM 76- B10.11 x I2C0-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKPGESLRSLCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLTVTVSS

364.	PM 76-B10.11 x I2C0-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIK
365.	PM 76-B10.11 x I2C0-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKGPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLWVAIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIK
366.	PM 76-B10.11 x I2C0-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVKGPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLWVAIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
367.	PM 76-B10.11 x I2C0-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVKGPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLWVAIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
368.	PM 76-B10.11 x I2C0-scFc_delGK	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVKGPGESLRSLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLWVAIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSGDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSGQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP

372.	PM 76- B10.11 CC x I2C0-scFc	CDR1 de VH	DYYMY
373.	PM 76- B10.11 CC x I2C0-scFc	CDR2 de VH	IISDGGYYTYYSDI IKG
374.	PM 76- B10.11 CC x I2C0-scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
375.	PM 76- B10.11 CC x I2C0-scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
376.	PM 76- B10.11 CC x I2C0-scFc	CDR2 de VL	SASYVYW
377.	PM 76- B10.11 CC x I2C0-scFc	CDR3 de VL	QQYDQQLIT
378.	PM 76- B10.11 CC x I2C0-scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSYYMYWVRQAPGKCLE WVAIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSS
379.	PM 76- B10.11 CC x I2C0-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKS LIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQQYD QQLITFGCGTKLEIK
380.	PM 76- B10.11 CC x I2C0-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSYYMYWVRQAPGKCLE WVAIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGCGTKLEIK
381.	PM 76- B10.11 CC x I2C0-scFc	molécula bienespecífi ca	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSYYMYWVRQAPGKCLE WVAIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
382.	PM 76- B10.11 CC x I2C0-scFc	molécula HLE bienespecífi ca	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSYYMYWVRQAPGKCLE WVAIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYS

			ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
386.	PM 76- B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)- scFc_delGK	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVKGPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYVYWDVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNLLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTFTLTTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MH EALHNHYTQKSLSLSPGK
387.	PM 76- B10.14 x I2C0-scFc	CDR1 de VH	DYYMY
388.	PM 76- B10.14 x I2C0-scFc	CDR2 de VH	IISDAGYYTYYSDDIIKG
389.	PM 76- B10.14 x I2C0-scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
390.	PM 76- B10.14 x I2C0-scFc	CDR1 de VL	KASQNV DANVA
391.	PM 76- B10.14 x I2C0-scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
392.	PM 76- B10.14 x I2C0-scFc	CDR3 de VL	QQYDQQLIT
393.	PM 76- B10.14 x I2C0-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKGPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDAGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSS
394.	PM 76- B10.14 x I2C0-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKS LIYSASYRYS DVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYD QQLITFGGGTKLEIK
395.	PM 76- B10.14 x I2C0-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKGPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDAGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYS DVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGGGTKLEIK

396.	PM 76-B10.14 x I2C0-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIIISDAGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVNDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
397.	PM 76-B10.14 x I2C0-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIIISDAGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVNDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
398.	PM 76-B10.14 x I2C0-scFc_delGK	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIIISDAGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVNDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGSGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
399.	PM 76-B10.14 x I2C0 CC (103/43)-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLEWVAIIISDAGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVNDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

405.	PM 76- B10.14 CC x I2C0-scFc	CDR1 de VL	KASQNV DANVA
406.	PM 76- B10.14 CC x I2C0-scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
407.	PM 76- B10.14 CC x I2C0-scFc	CDR3 de VL	QQYDQQLIT
408.	PM 76- B10.14 CC x I2C0-scFc	VH	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAII SDAGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSS
409.	PM 76- B10.14 CC x I2C0-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASV GDRVITITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLI YASARYSDVPSRFSGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQQYDQQLIT FGCGTKLEIK
410.	PM 76- B10.14 CC x I2C0-scFc	scFv	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAII SDAGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASV GDRVITITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLI YASARYSDVPSRFSGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQQYDQQLIT FGCGTKLEIK
411.	PM 76- B10.14 CC x I2C0-scFc	molécula bienespecífica	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAII SDAGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASV GDRVITITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLI YASARYSDVPSRFSGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQQYDQQLIT FGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
412.	PM 76- B10.14 CC x I2C0-scFc	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAII SDAGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASV GDRVITITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLI YASARYSDVPSRFSGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQQYDQQLIT FGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
413.	PM 76- B10.14 CC x	molécula HLE	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLE WVAII SDAGYYTYYS DI I KGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASV GDRVITITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLI

	I2C0-scFc_delGK	biespecífica	YSASYRYSADVPSRFGSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWQGGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTTLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGSGGGG SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
414.	PM 76-B10.14 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDAGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSADVPSRFGSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTTLTVL
415.	PM 76-B10.14 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDAGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSADVPSRFGSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGKTTLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
416.	PM 76-B10.14 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc_delGK	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDAGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSADVPSRFGSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG

			KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
417.	PM 76- B10.17 x I2C0-scFc	CDR1 de VH	DYYMY
418.	PM 76- B10.17 x I2C0-scFc	CDR2 de VH	IISDAGYYTYYSDI IKG
419.	PM 76- B10.17 x I2C0-scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
420.	PM 76- B10.17 x I2C0-scFc	CDR1 de VL	KASQNV DANVA
421.	PM 76- B10.17 x I2C0-scFc	CDR2 de VL	SASYVYW
422.	PM 76- B10.17 x I2C0-scFc	CDR3 de VL	QQYDQQLIT
423.	PM 76- B10.17 x I2C0-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIISDAGYYTYYSDI IKGRTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLTVTVSS
424.	PM 76- B10.17 x I2C0-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQLIT FGGGTKLEIK
425.	PM 76- B10.17 x I2C0-scFc	scFv	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIISDAGYYTYYSDI IKGRTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQLIT FGGGTKLEIK
426.	PM 76- B10.17 x I2C0-scFc	molécula bienespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIISDAGYYTYYSDI IKGRTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDQQLIT FGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGTQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
427.	PM 76- B10.17 x I2C0-scFc	molécula HLE	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIISDAGYYTYYSDI IKGRTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI

		biespecífica	QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGSGG GGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
428.	PM 76- B10.17 x I2C0- scFc_delGK	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLR LSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIISDAGYYTYYSDI IKG RFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MH EALHNHYTQKSLSLSPGK
429.	PM 76- B10.17 x I2C0 CC (103/43)- scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLR LSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIISDAGYYTYYSDI IKG RFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQCP RGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
430.	PM 76- B10.17 x I2C0 CC (103/43)- scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLR LSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIISDAGYYTYYSDI IKG RFTISRDN AKNSLYLQMN SLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS

			TGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GG PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
431.	PM 76- B10.17 x I2C0 CC (103/43)- scFc_delGK	molécula HLE bienespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKGLE WVAIIISDAGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVVSSGGGGSGGGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVNDANVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFLTITSSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGGGTKLEIKSGGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LTVVSSGGGGSGGGGGSGGGGSGTQVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGGGSGGGG SGGG KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
432.	PM 76- B10.17 CC x I2C0-scFc	CDR1 de VH	DYYMY
433.	PM 76- B10.17 CC x I2C0-scFc	CDR2 de VH	IISDAGYYTYYSDDIIKG
434.	PM 76- B10.17 CC x I2C0-scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
435.	PM 76- B10.17 CC x I2C0-scFc	CDR1 de VL	KASQNVNDANVA
436.	PM 76- B10.17 CC x I2C0-scFc	CDR2 de VL	SASYVYW
437.	PM 76- B10.17 CC x I2C0-scFc	CDR3 de VL	QQYDQQLIT
438.	PM 76- B10.17 CC x I2C0-scFc	VH	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDAGYYTYYSDDIIKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLLTVVSS

439.	PM 76- B10.17 CC x I2C0-scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIK
440.	PM 76- B10.17 CC x I2C0-scFc	scFv	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLEWVAIISDAGYYTYYS DI IKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIK
441.	PM 76- B10.17 CC x I2C0-scFc	molécula biespecífica	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLEWVAIISDAGYYTYYS DI IKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSGTQVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL
442.	PM 76- B10.17 CC x I2C0-scFc	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLEWVAIISDAGYYTYYS DI IKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSGTQVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
443.	PM 76- B10.17 CC x I2C0- scFc_delGK	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLV KPGESLR LSCAASGFTFS DYYMYWVRQAPGKCLEWVAIISDAGYYTYYS DI IKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTIS SVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGSGGGSGGGSGGGSGTQVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGGAALTL SGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP

			CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
444.	PM 76- B10.17 CC x I2C0 CC (103/43)- scFc	molécula biespecífi ca	QVQLVESGGGLVKGPGESLRSLCAASGFTFSDDYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDAGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVL
445.	PM 76- B10.17 CC x I2C0 CC (103/43)- scFc	molécula HLE biespecífi ca	QVQLVESGGGLVKGPGESLRSLCAASGFTFSDDYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDAGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGGGGGGGGGGGGGGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
446.	PM 76- B10.17 CC x I2C0 CC (103/43)- scFc_delGK	molécula HLE biespecífi ca	QVQLVESGGGLVKGPGESLRSLCAASGFTFSDDYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDAGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFP LLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNV DANVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLT ISSVQSEDFATYYCQQYDQQ LITFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDS KNTAYLQMN NLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGG GTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGG SGGGGGGGGGGGGGGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK

	(103/43)- scFc_delGK	biespecífi ca	QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGGGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQT VVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGSGGGG SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFPYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
462.	PM 76-B10 CC x I2C0- scFc	CDR1 de VH	DYYMY
463.	PM 76-B10 CC x I2C0- scFc	CDR2 de VH	IISDGGYYTYYSDI IKG
464.	PM 76-B10 CC x I2C0- scFc	CDR3 de VH	GFPLLRHGAMDY
465.	PM 76-B10 CC x I2C0- scFc	CDR1 de VL	KASQNVDTNVA
466.	PM 76-B10 CC x I2C0- scFc	CDR2 de VL	SASYRYS
467.	PM 76-B10 CC x I2C0- scFc	CDR3 de VL	QQYDSYPYT
468.	PM 76-B10 CC x I2C0- scFc	VH	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCLASGFTFSYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LTVTVSS
469.	PM 76-B10 CC x I2C0- scFc	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKS LIYSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYD SYPYTFGCGTKLEIK
470.	PM 76-B10 CC x I2C0- scFc	scFv	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCLASGFTFSYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIK
471.	PM 76-B10 CC x I2C0- scFc	molécula biespecífi ca	QVQLVESGGGLVVKPGESLRLSCLASGFTFSYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLI YSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS

			RDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTTCGSS TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
472.	PM 76-B10 CC x I2C0- scFc	molécula HLE biespecífi ca	QVQLVESGGGLVKPGESLRSLCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTTCGSS TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGG GGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
473.	PM 76-B10 CC x I2C0- scFc_delGK	molécula HLE biespecífi ca	QVQLVESGGGLVKPGESLRSLCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTTCGSS TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGG SGGGGGGGGGGGGGGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
474.	PM 76-B10 CC x I2C0 CC (103/43)- scFc	molécula biespecífi ca	QVQLVESGGGLVKPGESLRSLCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAEDTA VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQNVDTNVAWYQKPGQAPKSLI YSASYRYSVPSRFSGSASGDTFTLTISVQSEDFATYYCQYDSY PYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNKYAMNWVRQAPGKLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTIS RDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTTCGSS TGAVTSGNYPNWVQKPGQAPRGLIGGTFKFLAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
475.	PM 76-B10 CC x I2C0 CC	molécula HLE	QVQLVESGGGLVKPGESLRSLCAASGFTFSDDYYMYWVRQAPGKCLE WVAIIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNLSKAEDTA

	(103/43)-scFc	biespecífica	VYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSGT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQCP RGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
476.	PM 76-B10 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc_delGK	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGLVKPGESLR LSCAASGFTFSDYYMYWVRQAPGKCLEWVAIISDGGYYTYYSDI IKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGT LVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSDI QMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYRYSQVPSRFSGSASGTDFTLTISVQSEDFATYYCQQYDSYPYTFGCGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYCGQGT LVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSGT VVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSS TGAVTSGNYPNWVQQKPGQCP RGLIGG TKFLAPGTPARFSGSLLGKKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
477.	bisagra de IgG1		DKTHTCPPCP
478.	bisagra de IgG2		ERKCCVECP
479.	bisagra de IgG3		ELKTPDTHTCPRCP
480.	bisagra de IgG4		ESKYGPPCPSCP
481.	EGFRvIIIccxI2 C-bisagra-CH2-CH3-enlazador-bisagra-CH2-CH3 (DF9)	molécula HLE biespecífica	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLEWVAWIYDGS DKKYADSVGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTG NPRDFDYWGQGT LVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSDTVM TQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYRISRFRSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDVGVY YCMQSTHVPRTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGT LVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSGT VVTQEP SLTVSPGGT

			VTLTGSSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPAR FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL GGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG KGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
482.	EGFRvIIIccx12 C-bisagra- CH2-CH3- enlazador- CH2-CH3 (T2G)	molécula biespecífi ca HLE	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLE WVAVIWDGSDKYYADSVRGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTLLTVSSGGGSGGGGSGGGG SDTVMQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQR GQPPRLLIYRISRFRSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDVGVY YCMQSTHVPRTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLK LSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADS VKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLLTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEP SLTVSPGGT VTLTGSSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPAR FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL GGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG KGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP CEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
483.	EGFRvIIIccx12 C- bisagra- CH2- enlazador- bisagra-CH2- CH3- enlazador- CH3 (D3L)	molécula HLE biespecífi ca	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLE WVAVIWDGSDKYYADSVRGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTLLTVSSGGGSGGGGSGGGG SDTVMQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQR GQPPRLLIYRISRFRSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDVGVY YCMQSTHVPRTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLK LSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADS VKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLLTVSSGGGSGGGGSGGGGSGTQVVTQEP SLTVSPGGT VTLTGSSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPAR FSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL GGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGGGSGGGGSGGGG SGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
484.	EGFRvIIIccx12 C- bisagra- CH2-	molécula HLE	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLE WVAVIWDGSDKYYADSVRGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTLLTVSSGGGSGGGGSGGGG SDTVMQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQR

