

ANTICUERPOS ANTI- α v β 8 Y COMPOSICIONES Y USOS DE LOS MISMOS

SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud reivindica la prioridad de EE. UU. No. de serie 62/728,688
5 presentada el 7 de septiembre de 2018 y EE. UU. No. de serie 62/890,945 presentada
el 23 de agosto de 2019, cuyo contenido se incorpora aquí como referencia en su
totalidad.

LISTADO DE SECUENCIAS

10 La especificación incorpora además a modo de referencia el Listado de
Secuencias presentado en la presente el jueves, 5 de septiembre de 2019. De
conformidad con 37 C.F.R. § 1.52 (e) (5), el archivo de texto del Listado de Secuencias,
identificado como PC72413A_SequenceListing_ST25.txt, es de 184,211 bytes y fue
creado el 3 de septiembre de 2019. El Listado de Secuencias, archivado
15 electrónicamente en la presente, no se extiende más allá del alcance de la
especificación y, por lo tanto, no contiene material nuevo.

PARTES EN UNA DECLARACIÓN DE INVESTIGACIÓN CONJUNTA

La invención reivindicada actualmente fue hecha por o en nombre de las partes
20 enumeradas a continuación en un acuerdo de investigación conjunta. El acuerdo de
investigación conjunta estuvo en vigencia en la fecha o antes de la fecha en que se
realizó la invención reivindicada y la invención reivindicada se realizó como resultado
de actividades realizadas dentro del alcance del acuerdo de investigación conjunta.
Las partes del acuerdo con la investigación conjunta son LOS REGENTES DE LA
25 UNIVERSIDAD DE CALIFORNIA en nombre de su CAMPUS DE SAN FRANCISCO y
PFIZER INC.

CAMPO

La presente invención se refiere a anticuerpos y fragmentos de unión a
30 antígenos de los mismos, que se unen específicamente a la integrina α v β 8, y sus
composiciones, métodos y usos.

ANTECEDENTES

El factor de crecimiento transformante β (TGF β) es un potente supresor de la
35 inmunidad adaptativa e innata y un importante mediador de la inmunosupresión por

parte de un subconjunto de células T reguladoras. El TGF β es necesario para la inducción de células Th17, que pueden promover la progresión tumoral a través de la inducción de inflamación granulocítica y promueve la transformación epitelial a mesenquimatosa de las células tumorales y la secreción y acumulación de un estroma tumoral fibrótico que puede contribuir a la exclusión de las células inmunitarias de algunos tumores sólidos. Por todas estas razones, se ha explorado la inhibición de TGF β como una inmunoterapia adyuvante, especialmente en los llamados tumores "inmuno-excluidos" (Gorelik, *Nat. Med.* 7:1118-1122, 2001; Tauriello, *Nature* 554:538-543, 2018; Mariathasan, *Nature* 554:544-548, 2018, Dodagatta, *J Immunother Cancer*. 7: 62. 2019; Patente EE.UU. No. 10,167,334). Sin embargo, dado que TGF β desempeña importantes funciones homeostáticas en muchos sistemas biológicos, el direccionamiento sistémico de la señalización de TGF β presenta numerosos desafíos debido a efectos secundarios no deseados (Hata y Akhurst *Nat. Rev. Drug Dev.* 11, 791-811, 2012; Akhurst, *Cold Spring Harbor Perspectives*. 10, 2017; Flavell, *Nat. Rev. Immunol.* 10:554-567, 2010).

Estudios anteriores han demostrado que la inhibición de la señalización de TGF β puede mejorar las respuestas a las terapias de radiación o vacunas en combinación con la inhibición del punto de control (Vanpouille-Box, *Cancer Res.* 75:2232-2242, 2015; Terabe, *Oncol Immunology* 6(5):e1308616, 2017). La actividad *in vivo* de TGF β se regula a través de varios mecanismos. Por ejemplo, TGF β se secreta como un complejo inactivo o latente, donde el dominio escindido del péptido asociado a la latencia (LAP) cubre el péptido maduro TGF β activo. El TGF β latente puede unirse covalentemente a la matriz extracelular a través de la proteína de unión de TGF β latente (LTBP) o mostrarse en la superficie celular por la proteína predominante de repeticiones de glicoproteína A (GARP). Los primeros datos *in vitro* mostraron que el complejo latente de TGF β puede ser activado por alta temperatura, pH ácido y diversas proteasas (Annes, *J Cell Sci.* 116: 217-24, 2003), sin embargo, queda por determinar la importancia de estos mecanismos *in vivo*.

Se ha demostrado que los miembros de la familia integrina α v, específicamente α v β 1, α v β 6 y α v β 8, desempeñan un papel importante en la activación del TGF β latente. La integrina α v β 8 es un heterodímero no covalente transmembrana que consta de subunidades ITG α v e ITG β 8. La expresión de α v β 8 es única entre las integrinas α v, donde su expresión por células inmunes tales como células dendríticas, células T reguladoras y macrófagos asociados a tumores ha surgido como un activador

contextual de TGFβ para la regulación de respuestas inmunes activas. La expresión de αvβ8 por las células dendríticas (DC) actúa como un mediador de la producción de TGFβ durante la estimulación de las células T e influye fuertemente en la diferenciación y el desarrollo de las células Tregs y Th17 a expensas de la diferenciación Th1 durante las respuestas inmunes. Los ratones con delección condicional de *Itgb8* en células dendríticas o todos los leucocitos demuestran una inhibición dramática de la inducción dependiente de TGFβ de células Th17 específicas a antígeno y posteriormente están protegidos de disfunción orgánica en ciertos modelos preclínicos de autoinmunidad, como la esclerosis múltiple (encefalomielitis autoinmune experimental) y asma alérgica (Travis, *Nature*. 449(7160):361-5, 2007; Melton, *J Clin. Invest.* 120(12):4436-44, 2010).

El TGFβ juega un papel tanto en la diferenciación como en el reclutamiento de células inmunosupresoras al tumor y como factor intrínseco del tumor que contribuye a un microambiente tumoral inmunosupresor. En algunos cánceres, el TGFβ puede ser promotor de tumores al influir en numerosos aspectos del microambiente tumoral que incluyen angiogénesis, metástasis, transición epitelio-mesenquimatosa y quizás lo más importante, la supresión de las células inmunes infiltrantes.

Por consiguiente, en vista del papel prominente de TGFβ en el microambiente tumoral y los numerosos desafíos asociados con el direccionamiento sistémico de la señalización de TGFβ (Hata y Akhurst *Nat. Rev. Drug Dev.* 11, 791-811, 2012; Akhurst, *Cold Spring Harbor Perspectives* 10, 2017; Flavell, *Nat. Rev. Immunol.* 10: 554-567, 2010), existe la necesidad de desarrollar estrategias para la inhibición selectiva de la activación de TGFβ latente dependiente de αvβ8.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

En el presente documento se describen anticuerpos (ej., anticuerpos humanizados y quiméricos) y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se unen específicamente a la integrina αvβ8 (también denominada de manera intercambiable en el presente documento como "AVB8", "αvβ8" o "avb8") (ej., integrina αvβ8 de humano, ratón, mono *cynomolgus* y/o rata). En ciertos aspectos, los anticuerpos y sus fragmentos de unión a antígeno se unen a la integrina αvβ8 y, en última instancia, reducen la señalización de TGFβ (ej., TGFβ1 y TGFβ3), ej., en el tumor o microambiente tumoral.

El TGFβ maduro está presente en forma inactiva o latente en un complejo con el dominio de péptido asociado a la latencia (LAP). La unión de la integrina αvβ8 al LAP

da como resultado la liberación de TGFβ activo (ej., TGFβ1 y TGFβ3). La reducción de la unión de la integrina αvβ8 al LAP puede prevenir la liberación de TGFβ activo, reduciendo así la señalización de TGFβ. Se sabe que el TGFβ tiene efectos inmunosupresores, ej., en el microambiente tumoral, por lo que la reducción de la actividad del TGFβ y/o la señalización usando los anticuerpos descritos aquí puede resultar en la activación de una respuesta inmunitaria, ej., una respuesta antitumoral *in vivo*.

Debido a la expresión restringida de la integrina αvβ8 en células inmunes (ej., células dendríticas, células reguladoras T, macrófagos asociados a tumores) y células tumorales, los anticuerpos descritos en este documento pueden dar como resultado una reducción no sistémica más dirigida de la señalización de TGFβ. Por tanto, los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la divulgación permiten un antagonismo más selectivo de la actividad de TGFβ en el sistema inmunológico y/o el microambiente tumoral, mejorando así una respuesta inmunitaria antitumoral en un sujeto. En algunas modalidades descritas en este documento, se ha demostrado que los anticuerpos contra la integrina αvβ8 causan supresión del crecimiento y/o regresión tumoral completa en modelos animales para varios cánceres, que incluyen, por ejemplo, carcinoma de células escamosas, cáncer de mama y/o cáncer de colon, solo o en combinación con otros inmunomoduladores, tales como moduladores de inhibidores de puntos de control (ej., inhibidores de PD-1, PD-L1, CTLA-4 o agonistas de 4-1BB), o terapias contra el cáncer, ej., radioterapia.

En consecuencia, en ciertos aspectos, la divulgación proporciona anticuerpos, y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se unen a la integrina αvβ8 con alta afinidad y especificidad, moléculas de ácido nucleico que codifican anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, vectores de expresión, células huésped y métodos para preparar los mismos. En ciertos aspectos, los anticuerpos, y fragmentos de unión a antígeno del mismo, exhiben funciones efectoras alteradas (ej., tienen una actividad de citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC) reducida y/o una actividad de citotoxicidad dependiente de complemento (CDC) reducida). En ciertos aspectos, los anticuerpos de integrina anti-αvβ8 y fragmentos de unión a antígeno de los mismos exhiben una afinidad de unión mejorada por la integrina αvβ8 en comparación con los anticuerpos de hibridoma murino y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, de los que se derivan. Los anticuerpos humanizados de integrina anti-αvβ8 y los fragmentos de unión a antígeno de los

mismos descritos en este documento se pueden usar solos o en combinación con otros agentes o modalidades terapéuticas (ej., inmunomoduladores o terapias contra el cáncer) para tratar, prevenir y/o diagnosticar trastornos, tales como trastornos cancerígenos (ej., tumores sólidos y de tejidos blandos). Por tanto, se describen composiciones y métodos para detectar la integrina $\alpha\beta 8$, así como métodos para tratar diversos trastornos, incluido el cáncer, usando anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$ y fragmentos de unión a antígeno de los mismos.

Los expertos en la técnica reconocerán, o serán capaces de determinar usando no más que una experimentación rutinaria, muchos equivalentes a las modalidades específicas de la invención descritas en este documento. Tales equivalentes están destinados a estar contemplados por las siguientes modalidades (E).

E1. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$, en donde dicho anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, tiene al menos una de las siguientes propiedades:

- i. una afinidad de unión, expresada como KD, por la integrina $\alpha\beta 8$ humana que es menor que la KD para el anticuerpo murino ADWA11 como se describe en la patente EE.UU. No. 9,969,804, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad, confirmando las secuencias de aminoácidos y como se establece en, ej., la SEC ID NO: 20-33 y 71-76 de la presente descripción, ej., los anticuerpos ADWA11 de la invención tienen una KD menor que 536 pM (ej., 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 370, 400, 450, 500, 510, 520, 530, 531, 532, 533, 534 o 535 pM);
- ii. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ humana que es menor o igual a 200 pM (ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 180, 190 o 200 pM), ej., para la integrina $\alpha\beta 8$ humana purificada;
- iii. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ humana que es menor o igual a 100 pM para la integrina $\alpha\beta 8$ humana purificada;
- iv. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de ratón que es menor que la KD para el anticuerpo murino ADWA11, ej., menos de 489 pM (ej., 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 370, 400, 450, 460, 470, 480, 485, 486, 487 o 488 pM);

- v. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de ratón que es 70.8 +/- 19.9 pM para la integrina $\alpha\beta 8$ de ratón purificada;
- 5 vi. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de mono *cynomolgus* que es menor que la KD para el anticuerpo murino ADWA11, ej., menos de 507 pM (ej., 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 370, 400, 450, 500, 501, 502, 503, 504, 505 o 506 pM);
- vii. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de *cynomolgus* que es menor o igual a 100 pM para la integrina $\alpha\beta 8$ de *cynomolgus* purificada;
- viii. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de rata que es aproximadamente 160 pM;
- 10 ix. aproximadamente una afinidad equivalente por al menos dos, tres o todas las integrinas $\alpha\beta 8$ de humano, *cynomolgus*, ratón y rata, ej., con una KD menor de 100 pM (ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95 o 98 pM), ej., según se determina usando un ensayo de afinidad Biacore;
- 15 x. Una CI50 para inhibir la transactivación de TGF β que es menor que la del anticuerpo murino ADWA11, ej., menos de 183 pM (ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 175, 180, 181 o 182 pM);
- 20 xi. una CI50 para inhibir la transactivación de TGF β en células U251 de aproximadamente 199 +/- 93.6 pM;
- xii. una CI50 para inhibir la transactivación de TGF β que es de aproximadamente 100 pM a aproximadamente 300 pM;
- xiii. una EC50 para células U251 de aproximadamente 126 +/- 34 pM (ej., aproximadamente 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 115, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 140, 150, 160, 170, 180 o 190 pM);
- 25 xiv. una EC50 para células U251 de aproximadamente 256 +/- 115 pM (ej., aproximadamente 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 290, 300, 320, 340, 360, 380, 400 pM);
- xv. una EC50 para células U251 de aproximadamente 80 pM a aproximadamente 400 pM;
- 30 xvi. una EC50 para células C8-S de aproximadamente 115 pM;
- xvii. una EC50 para células C8-S de aproximadamente 145 +/- 23,7 pM;
- xviii. una EC50 para células C8-S de aproximadamente 110 pM a aproximadamente 180 pM;

- xix. al menos un parámetro farmacocinético (PK) humano previsto elegido entre:
- un aclaramiento del compartimento central (CL) de aproximadamente 0.12 - 0.15 ml/h/kg;
 - un aclaramiento de distribución intercompartimental (CLF) de aproximadamente 0.15 - 0.51 ml/h/kg;
 - un volumen de distribución para el compartimento central (V1) de aproximadamente 36 - 39 ml/kg;
 - un volumen de distribución para el compartimento periférico (V2) de aproximadamente 21-33 ml/kg; y/o
 - una semivida terminal ($t_{1/2}$) de aproximadamente 12 días;
 - una semivida terminal ($t_{1/2}$) de aproximadamente 15-17 días; o
- xx. sin unión detectable a receptores Fcγ humanos o C1q.
- 15 E2. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión al antígeno del mismo, de la modalidad E1, en donde la KD para la integrina αvβ8 humana es menor que la KD para el anticuerpo murino ADWA11, ej., menos de 536 pM (ej., 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 370, 400, 450, 500, 510, 520, 530, 531, 532, 533, 534 o 535 pm).
- 20 E3. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno, de la modalidad E1 o E2, en donde la KD para la integrina αvβ8 humana es menor o igual a 100 pM (ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 pM), ej., para la integrina αvβ8 humana purificada.
- 25 E4. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la KD para la integrina αvβ8 de ratón es menor que la KD para el anticuerpo murino ADWA11, ej., menos de 489 pM (ej., 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 370, 400, 450, 460, 470, 480, 485, 486, 487 o 488 pM).
- 30 E5. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades precedentes, en donde la KD para la integrina αvβ8 de ratón es aproximadamente 70.8 +/- 19.9 pM.

- 5 E6. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de mono *cynomolgus* es menor que la KD para el anticuerpo murino ADWA11, ej., menos de 507 pM (ej., 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 370, 400, 450, 500, 501, 502, 503, 504, 505 o 506 pM).
- 10 E7. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de mono *cynomolgus* es menor que 100 pM.
- 15 E8. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de rata es aproximadamente 160 pM.
- 20 E9. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, muestra una afinidad aproximadamente equivalente por al menos dos, tres o todas las integrinas $\alpha\beta 8$ de humano, *cynomolgus*, ratón, y rata, ej., con una KD menor de 100 pM (ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95 pM), ej., según lo determinado usando un ensayo de afinidad Biacore.
- 25 E10. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, muestra una afinidad aproximadamente equivalente por al menos dos, tres o todas las integrinas $\alpha\beta 8$ de humano, *cynomolgus*, ratón, y rata, ej., con una KD menor de 100 pM (ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95 o 98 pM), ej., según lo determinado usando un ensayo de afinidad Biacore.
- 30 E11. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la CI50 para inhibir la transactivación de TGF β es menor que la del anticuerpo murino ADWA11, ej., menos de 183 pM (ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 175, 180, 181 o 182 pM).

E12. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la CI50 para inhibir la transactivación de TGFβ en células U251 es aproximadamente 199 +/- 93.6 pM.

5

E13. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la CI50 para inhibir la transactivación de TGFβ es de aproximadamente 100 pM a aproximadamente 300 pM.

10 E14. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la EC50 para las células U251 es aproximadamente 126 pM con una desviación estándar de más o menos 34 pM.

15 E15. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la EC50 para las células U251 es aproximadamente 256 pM con una desviación estándar de más o menos 115 pM.

20 E16. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la EC50 para las células U251 es de aproximadamente 100 pM a aproximadamente 400 pM.

E17. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la EC50 para las células C8-S es aproximadamente 115 pM.

25

E18. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la EC50 para las células C8-S es aproximadamente 145 +/- 23.7 pM.

30 E19. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde la EC50 para las células C8-S es de aproximadamente 110 pM a aproximadamente 180 pM.

E20: El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que tiene al menos un parámetro farmacocinético (PK) humano predicho elegido del grupo que consiste en:

- 5 (i) un aclaramiento del compartimento central (CL) de aproximadamente 0.12 - 0.15 ml/h/kg;
- (ii) un aclaramiento de distribución intercompartimental (CLF) de aproximadamente 0.15 - 0.51 ml/h/kg;
- (iii) un volumen de distribución para el compartimento central (V1) de aproximadamente 36 - 39 ml/kg;
- 10 (iv) un volumen de distribución para el compartimento periférico (V2) de aproximadamente 21 – 33 ml/kg; y/o
- (v) una semivida terminal ($t_{1/2}$) de aproximadamente 12-17 días.

15 E21. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, no muestra una unión detectable con un receptor Fcγ humano o C1q.

20 E22. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, tiene además al menos una de las siguientes propiedades:

- (i) se une específicamente a la integrina $\alpha\beta8$ (ej., integrina $\alpha\beta8$ de humano, ratón, mono *cynomolgus* y/o rata);
- 25 (ii) reduce una interacción entre la integrina $\alpha\beta8$ y el péptido asociado a la latencia (LAP);
- (iii) reduce la señalización de TGF- β ;
- (iv) bloquea eficazmente la activación de TGF β mediada por integrina $\alpha\beta8$ con una CI50 ≤ 10 nM;
- 30 (v) tiene una Kd comparable (dentro de 5 veces) hacia un ortólogo de primates no humanos (NHP);
- (vi) la selectividad se une a $\alpha\beta8$ humano y no se une de manera detectable a un homólogo de $\alpha\beta8$ (ej., $\alpha\beta1$, $\alpha\beta3$, $\alpha\beta5$ y $\alpha\beta6$);
- (vii) provoca la supresión del crecimiento y/o la regresión completa del tumor en un modelo animal para un cáncer, solo o en combinación con un agente

inmunomodulador, ej., moduladores de inhibidores de puntos de control, ej., inhibidores de PD-1, PD-L1, CTLA-4, o un agonista de una molécula estimulante, ej., 4-1BB;

- (viii) provoca la supresión del crecimiento y/o la regresión completa del tumor en un modelo animal para un cáncer en combinación con una terapia contra el cáncer, ej., radioterapia;
- (ix) muestra al menos un 60 % de reducción en el crecimiento tumoral en un modelo de injerto de tumor singénico, ej., cuando se administra a ≤ 10 mg/kg, solo o en combinación con un agente inmunomodulador (ej., un inhibidor de PD-1, PD-L1 o CTLA -4);
- (x) aumenta una respuesta antitumoral en presencia de uno o más inmunomoduladores, ej., un antagonista de un inhibidor de punto de control, ej., un antagonista de PD-1, PD-L1 o CTLA-4, o un activador de una respuesta inmune, ej., agonista 4-1BB, cuando se administra a un sujeto;
- (xi) tiene una eficacia que no depende de la expresión de la integrina $\alpha\beta 8$ en un modelo tumoral;
- (xii) aumenta la abundancia de células T CD8 + GzmB + en el microambiente tumoral;
- (xiii) muestra una disminución, ej., una disminución de al menos > 80 %, en el crecimiento tumoral cuando se usa en combinación con un antagonista de un inhibidor de punto de control (ej., un anticuerpo anti-PD-1 o anti-PD-L1), ej., en un modelo singénico de carcinoma de células escamosas, cáncer de mama y/o cáncer de colon;
- (xiv) muestra una mejora estadísticamente significativa en la supervivencia global de un sujeto, según lo determinado por un análisis de Kaplan-Meier;
- (xv) tiene un alto grado de estabilidad térmica;
- (xvi) muestra una agregación mínima a alta concentración; y
- (xvii) puede mostrar una expresión y pureza reproducibles en condiciones de fabricación a gran escala.

E23. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende:

una, dos o tres CDR de una región variable de cadena pesada (ej., H1, H2 o H3), y/o una, dos o tres CDR de una región variable de cadena ligera (ej., L1, L2 o L3) seleccionada a partir de:

- (i) una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 8 o 14,
una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 9 o 15,
una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 10 o 16,
una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 11 o 17,
una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 12 o 18, y
una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 13 o 19, o
- (ii) una CDR-H1 que comprende al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (ej., una sustitución, delección o inserción, ej., sustitución conservadora) con respecto a la SEC ID NO: 8 o 14,
una CDR-H2 que comprende al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (ej., una sustitución, delección o inserción, ej., sustitución conservadora) con respecto a la SEC ID NO: 9 o 15,
una CDR-H3 que comprende al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (ej., una sustitución, delección o inserción, ej., sustitución conservadora) con respecto a la SEC ID NO: 10 o 16,
una CDR-L1 que comprende al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (ej., una sustitución, delección o inserción, ej., sustitución conservadora) con respecto a la SEC ID NO: 11 o 17,
una CDR-L2 que comprende al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (ej., una sustitución, delección o inserción, ej., sustitución conservadora) con respecto a la SEC ID NO: 12 o 18, o
una CDR-L3 que comprende al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (ej., una sustitución, delección o inserción, ej., sustitución conservadora) con respecto a la SEC ID NO: 13 o 19, en donde opcionalmente:

cualquiera de CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 o CDR-L3 no comprende la secuencia de aminoácidos de ninguna de las:

- (a) SEC ID NO: 22, 23, 24, 25, 26 y 27, respectivamente,
- (b) SEC ID NO: 28, 29, 30, 31, 32 y 33, respectivamente,
- 5 (c) SEC ID NO: 22, 23, 24, 71, 72 y 73, respectivamente, o
- (d) SEC ID NO: 28, 29, 30, 74, 75, y 76, respectivamente.

Alternativamente, o en combinación con cualquiera de las modalidades proporcionadas en este documento (ej., E1-E23), el anticuerpo, o fragmento de unión a
10 antígeno del mismo, tiene uno o más de los siguientes aspectos, características y modalidades.

E24. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana, que comprende:

15 una, dos o tres CDR de una región variable de cadena pesada (ej., H1, H2 o H3), y/o una, dos o tres CDR de una región variable de cadena ligera (ej., L1, L2 o L3) seleccionada a partir de:

- (i) una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 8,
- 20 una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 9,
- una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 10,
- una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 11,
- 25 una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 12, y
- una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 13, o
- 30 (ii) una CDR-H1 que comprende al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (ej., una sustitución, delección o inserción, ej., sustitución conservadora) con respecto a la SEC ID NO: 8,

una CDR-H2 que comprende al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (ej., una sustitución, delección o inserción, ej., sustitución conservadora) con respecto a la SEC ID NO: 9,

5 una CDR-H3 que comprende al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (ej., una sustitución, delección o inserción, ej., sustitución conservadora) con respecto a la SEC ID NO: 10,

una CDR-L1 que comprende al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (ej., una sustitución, delección o inserción, ej., sustitución conservadora) con respecto a la SEC ID NO: 11,

10 una CDR-L2 que comprende al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (ej., una sustitución, delección o inserción, ej., sustitución conservadora) con respecto a la SEC ID NO: 12, o

una CDR-L3 que comprende al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (ej., una sustitución, delección o inserción, ej., sustitución conservadora) con respecto a la SEC ID NO: 13, en donde
15 opcionalmente:

cualquiera de CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 o CDR-L3 no comprende la secuencia de aminoácidos de ninguna de las:

- 20 (a) SEC ID NO: 22, 23, 24, 25, 26 y 27, respectivamente, o
(b) SEC ID NO: 22, 23, 24, 71, 72, y 73, respectivamente.

E25. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha v \beta 8$ humana, que comprende:

25 una, dos o tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de una región variable de cadena pesada (ej., H1, H2 o H3), y/o una, dos o tres CDR de una región variable de cadena ligera (ej., L1, L2 o L3) seleccionadas a partir de:

una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 9,
una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 11,
una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 12,

30 y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 13.

E26 El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E24 o E25, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 8,
una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 9, y
una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 10.

5 E27. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades E24-E26, que comprende:

una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 11,
una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 12,

y

10 una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 13.

E28. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 8,
15 una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 9,
una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 10,
una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 11,
una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 12,

y

20 una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 13.

E29. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana, que comprende una, dos o tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de una región variable de cadena pesada
25 (ej., H1, H2 o H3), y/o una, dos o tres CDR de una región variable de cadena ligera (ej., L1, L2 o L3):

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de DYYMN (SEC ID NO: 8);

una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de

30 WIDPDX₁GNTIYX₂PKFQG (SEC ID NO: 131), en donde X₁ puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de N, una sustitución conservadora de N, N o Q; y X₂ puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de D, una sustitución conservadora de D, D o E;

una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de RLLMDY (SEC ID NO: 10);

una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de RSTKSLX₃HFNGNTYLF (SEC ID NO: 132), en donde X₃ puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de L, una sustitución conservadora de L, L o S;

una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de YYMSX₄LAS (SEC ID NO: 133), en donde X₄ puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de N, una sustitución conservadora de N, N o S; y/o

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de X₅QSLEYPFT (SEC ID NO: 134), en donde X₅ puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de M, una sustitución conservadora de M, M o Q;

ej., en donde CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 no comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEC ID NO: 22, 23, 24, 25, 26 y 27, respectivamente, o las SEC ID NO: 22, 23, 24, 71, 72, y 73, respectivamente.

E30. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E29, en donde X₁ es Q y X₂ es E.

E31. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E29 o E30, en donde X₃ es S.

E32. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades E29-E31, en donde X₄ es S.

E33. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades E29-E32, en donde X₅ es Q.

E34. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E29, en donde X₁ es Q, X₂ es E, X₃ es S y X₅ es Q.

E35. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E29, en donde X₁ es Q, X₂ es E y X₃ es S.

E36. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E29, en donde X_1 es Q, X_2 es E, X_3 es S, X_4 es S y X_5 es Q.

E37. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende una, dos o tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de una región variable de cadena pesada (ej., H1, H2 o H3), y/o una, dos o tres CDR de una región variable de cadena ligera (ej., L1, L2 o L3):

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de DYYMN (SEC ID NO: 8);

una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de WIDPDX₁GX₂TIYX₃X₄X₅X₆X₇G (SEC ID NO: 167), en donde X_1 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de N, una sustitución conservadora de N, N o Q; X_2 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de N, una sustitución conservadora de N, N o Q; X_3 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de D, una sustitución conservadora de D, D o E; X_4 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de P, una sustitución conservadora de P, P, Q, D o A; X_5 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de K, una sustitución conservadora de K, K, S o A; X_6 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de F, una sustitución conservadora de F, F o V; y X_7 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de Q, una sustitución conservadora de Q, Q o K;

una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de RLLMDY (SEC ID NO: 10);

una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de RSTKSX₈X₉HFNGNX₁₀YLF (SEC ID NO: 168), donde X_8 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de L, una sustitución conservadora de L, L o I; X_9 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de L, una sustitución conservadora de L, L o S; y X_{10} puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de T, una sustitución conservadora de T, T o S;

una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de YX₁₁X₁₂SX₁₃LX₁₄S (SEC ID NO: 169), en donde X_{11} puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de Y, una sustitución conservadora de Y, Y o A; X_{12} puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de M, una sustitución

conservadora de M, M o A; X_{13} puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de N, una sustitución conservadora de N, N o S; y X_{14} puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de A, una sustitución conservadora de A, A o Q; y/o

5 una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de $X_{15}QSX_{16}X_{17}X_{18}PX_{19}T$ (SEC ID NO: 170), en donde X_{15} puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de M, una sustitución conservadora de M, M o Q; X_{16} puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de L, una sustitución conservadora de L, L o Y; X_{17} puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de E, una sustitución conservadora de E, E o S; X_{18} puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de Y, una sustitución conservadora de Y, Y o T; y X_{19} puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de F, una sustitución conservadora de F, F, L o W;

15 ej., en donde CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 no comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEC ID NO: 22, 23, 24, 25, 26 y 27, respectivamente, o las SEC ID NO: 22, 23, 24, 71, 72 y 73, respectivamente, en donde opcionalmente:

X_1 es Q, X_2 es N, X_3 es E, X_4 es P, X_5 es K, X_6 es F, y X_7 es Q,
 X_8 es L, X_9 es S, y X_{10} es T,
20 X_{11} es Y, X_{12} es M, X_{13} es S, y X_{14} es A, y/o
 X_{15} es Q, X_{16} es L, X_{17} es E, X_{18} es Y, y X_{19} es F.

E38. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha v \beta 8$ humana, que comprende una, dos o tres regiones determinantes de complementariedad (CDR) de una región variable de cadena pesada (ej., H1, H2 o H3), y/o una, dos o tres CDR de una región variable de cadena ligera (ej., L1, L2 o L3):

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de DYYMN (SEC ID NO: 8);

30 una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de WIDPDX₁GNTIYX₂PKX₃QG (SEC ID NO: 171), en donde X_1 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de N, una sustitución conservadora de N, N o Q; X_2 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de D, una

sustitución conservadora de D, D o E; y X_3 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de F, una sustitución conservadora de F, F o V;

una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de RLLMDY (SEC ID NO: 10);

5 una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de RSTKSL X_4 HFNGNTYLF (SEC ID NO: 172), en donde X_4 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de L, una sustitución conservadora de L, L o S;

una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de YY X_5 S X_6 LAS (SEC ID NO: 173), en donde X_5 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un

10 aminoácido distinto de M, una sustitución conservadora de M, M o A; y X_6 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de N, una sustitución conservadora de N, N o S; y/o

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de X_7 Q SX_8 EYPFT (SEC ID NO: 174), en donde X_7 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un

15 aminoácido distinto de M, una sustitución conservadora de M, M o Q; y X_8 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de L, una sustitución conservadora de L, L o Y;

ej., en donde CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 no comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEC ID NO: 22, 23, 24, 25, 26 y 27, respectivamente, o las SEC ID NO: 22, 23, 24, 71, 72 y 73, respectivamente, en donde

20 opcionalmente:
 X_1 es Q, X_2 es E, y X_3 es F,
 X_4 es S,
 X_5 es M y X_6 es S, y/o
25 X_7 es Q y X_8 es L.

E39. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende una, dos o tres de las secuencias de CDR de una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6, en donde las secuencias de CDR son las definidas según Kabat.

E40. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende una, dos o tres de las

secuencias de CDR de una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7, en donde las secuencias de CDR son las definidas según Kabat.

E41. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta8$ humana, que comprende una, dos o tres de las secuencias de CDR de una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6 y una, dos o tres de las secuencias de CDR-L1 de una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7, en donde las secuencias de CDR son las definidas según Kabat.

E42. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta8$ humana, que comprende una, dos o tres de las secuencias de CDR de un polipéptido codificado por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 189, 190 o 191, en donde las secuencias de CDR son las definidas según Kabat.

E43. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta8$ humana, que comprende una, dos o tres de las secuencias de CDR de un polipéptido codificado por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 185 o 186, en donde las secuencias de CDR son las definidas según Kabat.

E44. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta8$ humana, que comprende una, dos o tres de las secuencias de CDR de un polipéptido codificado por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 189, 190 o 191 y una, dos o tres de las secuencias de CDR de un polipéptido codificado por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 185 o 186, en donde las secuencias de CDR son las definidas según Kabat.

E45. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta8$ humana, que comprende una o más regiones determinantes de complementariedad (CDR) seleccionadas a partir de:

(i) una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 14,

- una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 15,
- una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 16,
- 5 una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 17,
- una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 18, y
- una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 19; o
- 10 (ii) una CDR-H1 que comprende al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (ej., una sustitución, delección o inserción, ej., sustitución conservadora) con respecto a la SEC ID NO: 14,
- una CDR-H2 que comprende al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (ej., una sustitución, delección o inserción, ej., sustitución conservadora) con respecto a la SEC ID NO: 15,
- 15 una CDR-H3 que comprende al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (ej., una sustitución, delección o inserción, ej., sustitución conservadora) con respecto a la SEC ID NO: 16,
- 20 una CDR-L1 que comprende al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (ej., una sustitución, delección o inserción, ej., sustitución conservadora) con respecto a la SEC ID NO: 17,
- una CDR-L2 que comprende al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (ej., una sustitución, delección o inserción, ej., sustitución conservadora) con respecto a la SEC ID NO: 18, o
- 25 una CDR-L3 que comprende al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (ej., una sustitución, delección o inserción, ej., sustitución conservadora) con respecto a la SEC ID NO: 19, en donde opcionalmente:
- 30 cualquiera de CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 o CDR-L3 no comprende la secuencia de aminoácidos de ninguna de las
- (a) SEC ID NO: 28, 29, 30, 31, 32 y 33, respectivamente, o
- (b) SEC ID NO: 28, 29, 30, 74, 75, y 76, respectivamente.

E46. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana, que comprende una o más regiones determinantes de complementariedad (CDR) seleccionadas a partir de:

una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 15,

una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 17,

y

una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 18.

E47. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la

modalidad E45 o E46, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 14,

una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 15,

y

una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 16.

E48. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades E45-E47, que comprende:

una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 17,

una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 18,

y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 19.

E49. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 14,

una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 15,

una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 16,

una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 17,

una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 18,

y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 19.

E50. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 14);

una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de WIDPDX₁GN (SEC ID NO: 135), donde **X₁** puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de N, una sustitución conservadora de N, N o Q;

una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de RLLMDY (SEC ID NO: 16);

una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de STKSL**X₂**HFNGNTYL (SEC ID NO: 136), donde **X₂** puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de L, una sustitución conservadora de L, L o S;

una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de YYMS**X₃** (SEC ID NO: 137), en donde **X₃** puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de N, una sustitución conservadora de N, N o S; y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de qsleypft (SEC ID NO: 19);

ej., en donde CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 no comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEC ID NO: 28, 29, 30, 31, 32 y 33, respectivamente, o las SEC ID NO: 28, 29, 30, 74, 75, y 76, respectivamente.

E51. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E50, en donde **X₁** es Q, **X₂** es S y **X₃** es S.

E52. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de GFNI**X₁**DYYMN (SEC ID NO: 175), en donde **X₁** puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de K, una sustitución conservadora de K, K o A;

una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de WIDPDX₂G**X₃** (SEC ID NO: 176), donde **X₂** puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de N, una sustitución conservadora de N, N o Q; y **X₃** puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de N, una sustitución conservadora de N, N o Q;

una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de RLLMDY (SEC ID NO: 16);

una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de STKSX₄X₅HFNGNX₆YL (SEC ID NO: 177), en donde X₄ puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de L, una sustitución conservadora de L, L o I; X₅ puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de L, una sustitución conservadora de L, L o S; y X₆ puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de T, una sustitución conservadora de T, T o S;

una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de YX₇X₈SX₉ (SEC ID NO: 178), en donde X₇ puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de Y, una sustitución conservadora de Y, Y o A; X₈ puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de M, una sustitución conservadora de M, M o A; y X₉ puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de N, una sustitución conservadora de N, N o S; y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de QSX₁₀X₁₁X₁₂PX₁₃T (SEC ID NO: 197), en donde X₁₀ puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de L, una sustitución conservadora de L, L o Y; X₁₁ puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de E, una sustitución conservadora de E, E o S; X₁₂ puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de Y, una sustitución conservadora de Y, Y o T; y X₁₃ puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de F, una sustitución conservadora de F, F, L o W;

ej., en donde CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 no comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEC ID NO: 28, 29, 30, 31, 32 y 33, respectivamente, o las SEC ID NO: 28, 29, 30, 74, 75 y 76, respectivamente, en donde opcionalmente:

X₁ es Q, X₂ es N, X₃ es E, X₄ es P, X₅ es K, X₆ es F, y X₇ es Q,
X₈ es L, X₉ es S, y X₁₀ es T,
X₁₁ es Y, X₁₂ es M, X₁₃ es S, y X₁₄ es A, y/o
X₁₅ es Q, X₁₆ es L, X₁₇ es E, X₁₈ es Y, y X₁₉ es F.

E53. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de GFNIKDYMYN (SEC ID NO: 14);

una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de WIDPDX1GN (SEC ID NO: 135), donde X_1 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de N, una sustitución conservadora de N, N o Q;

5 una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de RLLMDY (SEC ID NO: 16);

una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de STKSL X_2 HFNGNTYL (SEC ID NO: 136), donde X_2 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de L, una sustitución conservadora de L, L o S;

10 una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de YY X_3 S X_4 (SEC ID NO: 179), en donde X_3 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de M, una sustitución conservadora de M, M o A; y X_4 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de N, una sustitución conservadora de N, N o S; y

15 una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de QS X_5 EYPFT (SEC ID NO: 180), donde X_5 puede ser cualquiera de: un aminoácido, un aminoácido distinto de L, una sustitución conservadora de L, L o Y;

ej., en donde CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 no comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEC ID NO: 28, 29, 30, 31, 32 y 33, respectivamente, o las SEC ID NO: 28, 29, 30, 74, 75 y 76, respectivamente, en donde opcionalmente:

20 X_1 es Q,
 X_2 es S,
 X_3 es M y X_4 es S, y/o
 X_5 es L.

25 E54. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende una, dos o tres de las secuencias de CDR de una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6, en donde las secuencias de CDR son las definidas según Chothia.

30 E55. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende una, dos o tres de las secuencias de CDR de una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7, en donde las secuencias de CDR son las definidas según Chothia.

- 5 E56. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana, que comprende una, dos o tres de las secuencias de CDR de una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6 y una, dos o tres de las secuencias de CDR-L1 de una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7, en donde las secuencias de CDR son las definidas según Chothia.
- 10 E57. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana, que comprende una, dos o tres de las secuencias de CDR de un polipéptido codificado por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 189, 190 o 191, en donde las secuencias de CDR son como se definen de acuerdo con Chothia.
- 15 E58. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana, que comprende una, dos o tres de las secuencias de CDR de un polipéptido codificado por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 185 o 186, en donde las secuencias de CDR son las definidas según Chothia.
- 20 E59. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana, que comprende una, dos o tres de las secuencias de CDR de un polipéptido codificado por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 189, 190 o 191 y una, dos o tres de las secuencias de CDR de un polipéptido codificado por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 185, 186, en donde las secuencias de CDR son las definidas según Chothia.
- 25 E60. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo comprende una región marco VH (ej., uno, dos, tres o cuatro de FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende un grupo amino secuencia de ácido que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98%, o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con una región marco VH de una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID NO: 6, 34-46, 88-91, o 93.

E61. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo comprende una región marco VL (ej., uno, dos, tres o cuatro de FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende un grupo amino secuencia de ácido que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98%, o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con una región marco VL de una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID NO: 7, 47-69, o 92.

E62. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo comprende una región marco VH (ej., uno, dos, tres o cuatro de FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende un secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la línea germinal de IGHV3-07, IGHV1-46, IGHV3-23, IGHV3-30, IGHV1-69 o IGHV3-48.

E63. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo comprende una región marco VL (ej., uno, dos, tres o cuatro de FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la línea germinal de IGKV1-39, IGKV2-28, IGKV2-30, IGKV4-1, o IGKV3-11.

E64. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo comprende una región marco VH (ej., uno, dos, tres o cuatro de FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende una secuencia de aminoácidos que comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 o 23 sustituciones en relación con una región marco VH de una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID NO: 6, 34-46, 88-91, o 93.

E65. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo comprende una región marco VL (ej., uno, dos, tres o cuatro de FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende una secuencia de aminoácidos que comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18,

19, 20, 21, 22 o 23 sustituciones en relación con una región marco VL de una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID NO: 7, 47-69, o 92.

5 E66. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo comprende una región marco VH (ej., uno, dos, tres o cuatro de FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende una secuencia de aminoácidos que comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 o 23 sustituciones en relación con la secuencia de aminoácidos de la
10 línea germinal de IGHV3-07, IGHV1-46, IGHV3-23, IGHV3-30, IGHV1-69 o IGHV3-48.

E67. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo comprende una región marco VL (ej., uno, dos, tres o cuatro de FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende una secuencia de
15 aminoácidos que comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 o 23 sustituciones en relación con la secuencia de aminoácidos de la línea germinal de IGKV1-39, IGKV2-28, IGKV2-30, IGKV4-1, o IGKV3-11.

E68. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera
20 de las modalidades anteriores, que comprende una región Fc de IgG1 murina que comprende una sustitución en una o más posiciones seleccionadas entre E233, E318, K320 y R322 (ej., E233P, E318A, K320A y R322A), ej., en donde la región Fc de IgG1 murina comprende una o más de las sustituciones E233P, E318A, K320A y R322A, numeradas según el esquema de numeración de Eu (véase, ej., la Patente de EE.UU.
25 N° 5.624.821).

E69. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende una región Fc de IgG1 humana que comprende una sustitución en una o más posiciones seleccionadas entre L234, L235 y
30 G237 (ej., L234A, L235A y G237A), ej., en donde la región Fc de IgG1 humana comprende una o más de las sustituciones L234A, L235A y G237A, numeradas según el esquema de numeración Eu.

E70. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo comprende además una región VH que comprende una variante de la secuencia de aminoácidos VH de la línea germinal de IGHV3-07, IGHV1-46, IGHV3-23, IGHV3 -30, IGHV1-69 o IGHV3-48, en donde la región VH comprende una o más sustituciones en las posiciones T28, F29, A49, R72, N74, A75 y/o L79 (ej., una o más sustituciones seleccionadas de T28N, F29I, A49G, R72A, N74T, A75S y L79A), numeradas según la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 127, en donde opcionalmente la región VH comprende las sustituciones:

(i) T28N y F29I;

(ii) T28N, F29I, y R72A;

(iii) T28N, F29I, R72A, A49G, y L79A;

(iv) T28N, F29I, R72A, N74T, y A75S; o

(v) T28N, F29I, R72A, A49G, L79A, N74T, y A75S,

en donde (i) - (v) están numerados de acuerdo con la secuencia de aminoácidos

de la SEC ID NO: 127, en donde opcionalmente:

la región VH comprende las sustituciones T28N, F29I, R72A, A49G, L79A, N74T y A75S, numeradas según la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 127.

E71. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo comprende además una región VH que comprende uno o más (ej., 2, 3, 4, 5, 6 o todos) de los siguientes:

(a) un Asn en la posición 28,

(B) un Ile en posición 29,

(C) un Gly en posición 49,

(D) un Ala en la posición 72,

(E) un Thr en posición 74,

(f) un Ser en la posición 75, y

(g) un Ala en la posición 79, numerada según la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 127, en donde opcionalmente la región VH comprende:

(i) un Asn en la posición 28 y un Ile en la posición 29;

(ii) un Asn en la posición 28, un Ile en la posición 29 y un Ala en la posición 72;

(iii) un Asn en la posición 28, un Ile en la posición 29, un Ala en la posición 72, un Gly en la posición 49 y un Ala en la posición 79;

(iv) un Asn en la posición 28, un Ile en la posición 29, un Ala en la posición 72, un Thr en la posición 74 y un Ser en la posición 75; o

(v) un Asn en la posición 28, un Ile en la posición 29, un Ala en la posición 72, un Gly en la posición 49, un Ala en la posición 79, un Thr en la posición 74 y un Ser en la posición 75, numerados según la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 127, en donde opcionalmente:

la región VH comprende un Asn en la posición 28, un Ile en la posición 29, un Ala en la posición 72, un Gly en la posición 49, un Ala en la posición 79, un Thr en la posición 74 y un Ser en la posición 75, numerados según la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 127.

E72. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo comprende además una región VL que comprende una variante de la secuencia de aminoácidos VL de la línea germinal de IGKV1-39, IGKV2-28, IGKV2-30, IGKV4 -1, o IGKV3-11, donde la región VH comprende una o más sustituciones en las posiciones Y36 y/o L46 (ej., Y36F y/o L46R), numeradas según la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 128, en donde opcionalmente la región VL comprende las sustituciones:

(i) L46R; o

(ii) L46R y Y36F,

en donde (i) - (v) están numerados de acuerdo con la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 128, en donde opcionalmente la región VL comprende la sustitución L46R, numerada según la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 128.

E73. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo comprende además una región VL que comprende uno o ambos de los siguientes:

(a) un Tyr en la posición 36, y

(b) un Leu en la posición 46, numerado según la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 128, en donde opcionalmente la región VL comprende:

(i) un Leu en la posición 46; o

(ii) un Leu en la posición 46 y un Tyr en la posición 36, numerados de acuerdo con la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 128, en donde opcionalmente:

la región VL comprende un Leu en la posición 46, numerado de acuerdo con la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 128.

5 E74. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende una o más CDR de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde una o más CDR comprenden al menos una alteración de aminoácidos, pero no más de dos, tres o cuatro alteraciones (ej., una sustitución, delección o inserción, ej., sustitución conservadora); en donde las CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 no comprenden las
10 secuencias de aminoácidos de las SEC ID NO: 22, 23, 24, 25, 26 y 27, respectivamente, SEC ID NO: 22, 23, 24, 71, 72 y 73, respectivamente, SEC ID NO: 28, 29, 30, 31, 32 y 33, respectivamente, o las SEC ID NO: 28, 29, 30, 74, 75, y 76, respectivamente.

15 E75. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende además una región VH que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en la Tabla 1.

20 E76. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende además una región VL que comprende una secuencia de aminoácidos establecida en la Tabla 1.

E77. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende una región VH que comprende una
25 secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con cualquiera de las SEC ID NO: 6, 34-46, 88-91, o 93.

30 E78. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E77, que comprende una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6.

E79. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende una región VL que comprende una

secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% , 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con cualquiera de las SEC ID NO: 7, 47-69, o 92.

- 5 E80. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E79, que comprende una región VL que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97 %, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia (ej., 100%) con la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7.
- 10 E81. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana, que comprende una región VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94 %, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con cualquiera de las SEC ID NO: 6, 34-46, 88-91, o 93.
- 15 E82. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E81, que comprende una región VH que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97 %, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia (ej., 100%) con la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6.
- 20 E83. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión al antígeno del mismo, de la modalidad E81 o E82, que comprende además una región VL que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96 %, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia (ej., 100%) con la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7.
- 25 E84. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E81, que comprende una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6.
- 30 E85. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E84, que comprende una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7.

E86. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende una región VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94 %, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con cualquiera de las SEC ID NO: 7, 47-69, o 92.

E87. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E86, que comprende una región VL que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97 %, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia (ej., 100%) con la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7.

E88. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión al antígeno del mismo, de la modalidad E86 o E87, que comprende además una región VH que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96 %, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia (ej., 100%) con la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6.

E89. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E86, que comprende una región VL que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEC ID NO: 7, 47-69, o 92.

E90. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 39, en donde uno o más residuos de aminoácidos de tal SEC ID NO: 39 comprenden una o más sustituciones de aminoácidos seleccionadas de K30A, N55Q, N57Q, D61E, P62A, K63A y F64V, numeradas según la SEC ID NO: 39.

E91. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende una región VH que comprende al menos uno de los siguientes:

- (a) un Ala en la posición 30
- (b) un Gln en la posición 55,
- (c) un Gln en la posición 57,
- (d) un Glu en la posición 61,

- (e) un Ala en la posición 62,
- (f) un Ala en la posición 63, y
- (g) un Val en la posición 64, numerado según la SEC ID NO: 39.

- 5 E92. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E90, en donde dicha SEC ID NO: 39 comprende:
- (i) N55Q y D61E; o
 - (ii) N55Q, D61E y F64V, numerados según la SEC ID NO: 39, en donde opcionalmente dicha SEC ID NO: 39 comprende las sustituciones N55Q y D61E,
- 10 numeradas según la SEC ID NO: 39.

E93. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E91, en donde la región VH comprende:

- (i) un Gln en la posición 55 y un Glu en la posición 61; o
- 15 (ii) un Gln en la posición 55, un Glu en la posición 61 y un Val en la posición 64, numerados de acuerdo con la SEC ID NO: 39, en donde opcionalmente la región VH comprende un Gln en la posición 55 y un Glu en la posición 61, numerados según la SEC ID NO: 39.

- 20 E94. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E90 o E92, que comprende además una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 47, en donde uno o más residuos de aminoácidos de tal SEC ID NO: 47 comprenden una o más sustituciones de aminoácidos seleccionadas de L30S, Y55A, M56A, N58S, A60Q, M94Q, L97Y, F101L,
- 25 F101W y Q105G, o cualquier combinación de las mismas, numeradas según la SEC ID NO: 47, en donde opcionalmente uno o más residuos de aminoácidos de dicha SEC ID NO: 47 comprenden una o más sustituciones de aminoácidos seleccionadas entre L30S, M56A, N58S, M94Q, L97Y y Q105G.

- 30 E95. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E91 o E93, que comprende además una región VL que comprende al menos uno de los siguientes:
- (a) un Ser en la posición 30,
 - (b) un Ala en la posición 55,

(c) un Ala en la posición 56,
(d) un Ser en la posición 58,
(e) un Gln en la posición 60,
(f) un Gln en la posición 94,
5 (g) un Tyr en la posición 97,
(h) un Leu en la posición 101,
(i) un Trp en la posición 101, y
(j) un Gly en la posición 105, numerado según la SEC ID NO: 47, en donde
opcionalmente la región VL comprende al menos uno de los siguientes:

- 10 (a) un Ser en la posición 30,
(b) un Ala en la posición 56,
(c) un Ser en la posición 58,
(d) un Gln en la posición 94,
(e) un Tyr en la posición 97, y
15 (f) un Gly en la posición 105.

E96. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la
modalidad E94, en donde tal SEC ID NO: 47 comprende una sustitución L30S, M56A,
N58S, M94Q, L97Y y/o Q105G, numerada de acuerdo con SEC ID NO: 47.

- 20 E97. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad
E95, en donde la región VL comprende un Ser en la posición 30, un Ala en la posición
56, un Ser en la posición 58, un Gln en la posición 94, un Tyr en la posición 97, y/o un
Gly en la posición 105, numerados según la SEC ID NO: 47.

- 25 E98. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la
modalidad E94, en donde tal SEC ID NO: 47 comprende una sustitución L30S, N58S,
M94Q y/o Q105G, numerada según SEC ID NO: 47, en donde opcionalmente dicha
SEC ID NO: 47 comprende todas las sustituciones L30S, N58S, M94Q y Q105G.

- 30 E99. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad
E95, en donde la región VL comprende un Ser en la posición 30, un Ser en la posición
58, un Gln en la posición 94 y/o un Gly en la posición 105, numerados según la SEC ID

NO: 47, en donde opcionalmente la región VL comprende todo: un Ser en la posición 30, un Ser en la posición 58, un Gln en la posición 94 y un Gly en la posición 105.

5 E100. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E94, en donde tal SEC ID NO: 39 comprende las sustituciones N55Q y D61E, numeradas según la SEC ID NO: 39, y tal SEC ID NO: 47 comprende las sustituciones L30S, N58S, M94Q y Q105G, numeradas según la SEC ID NO: 47.

10 E101. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E95, en donde la región VH comprende un Gln en la posición 55 y un Glu en la posición 61, numerados según la SEC ID NO: 39, y la región VL comprende un Ser en la posición 30, un Ser en la posición 58, un Gln en la posición 94 y un Gly en la posición 105, numerados según la SEC ID NO: 47.

15 E102. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 47, en donde uno o más residuos de aminoácidos de tal SEC ID NO: 47 comprenden una o más sustituciones de aminoácidos seleccionadas entre L30S, Y55A, M56A, N58S, A60Q, M94Q, L97Y, 20 F101L, F101W y Q105G, o cualquier combinación de los mismos (ej., todos de L30S, M56A, N58S, M94Q, L97Y, y Q105G), numerados según la SEC ID NO: 47, en donde opcionalmente uno o más residuos de aminoácidos de dicha SEC ID NO: 47 comprenden una o más sustituciones de aminoácidos seleccionadas entre L30S, M56A, N58S, M94Q, L97Y y Q105G.

25 103. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E102, en donde tal SEC ID NO: 47 comprende una sustitución L30S, N58S, M94Q y/o Q105G, numerada según SEC ID NO: 47.

30 E104. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E102, que además comprende una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 39, en donde la secuencia de la SEC ID NO: 39 comprende una o más sustituciones de aminoácidos seleccionadas entre K30A, N55Q,

N57Q, D61E, P62A, K63A y F64V, o cualquier combinación de las mismas, numeradas según la SEC ID NO: 39.

5 E105. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E104, en donde dicha SEC ID NO: 39 comprende sustituciones N55Q y D61E.

10 E106. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% , 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 2 o 3.

15 E107. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que además comprende una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94 %, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 5.

20 E108. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha v \beta 8$ humana, que comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6 y una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7.

25 E109. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha v \beta 8$ humana, que comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 2 o 3, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5.

30 E110. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha v \beta 8$ humana, que comprende
(a) una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5
y

(b) una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 3, con o sin un residuo de lisina de extremo C-terminal.

E111. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por el inserto del plásmido depositado en la ATCC y que tiene el número de acceso PTA-124917, una cadena que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por el inserto del plásmido depositado con la ATCC y que tiene el Número de Acceso PTA-124918, o ambos.

E112. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94 %, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% (ej., 100%) de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 2 o 3, opcionalmente donde la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 2.

E113. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94 %, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% (ej., 100%) de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 5, en donde opcionalmente la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5, en donde opcionalmente el anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende además una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 2.

E114. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que comprende la SEC ID NO: 2, y una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que comprende la SEC ID NO: 5.

E115. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende una cadena pesada que

comprende una secuencia de aminoácidos que comprende la SEC ID NO: 3, y una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que comprende la SEC ID NO: 5.

- 5 E116. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 22,
una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 23,
una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 24,
10 una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 25,
una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 26,

y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 27;

y

- 15 en donde el anticuerpo comprende además una región marco VH (ej., uno, dos, tres o todos los cuatro de FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92 %, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con una región marco VH de una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID
20 NO: 6, 34-46, 88-91 o 93, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, pero menos de veinte alteraciones, ej., una sustitución o delección de aminoácidos, de la secuencia de aminoácidos de toda la región marco de VH (incluidos FR1, FR2, FR3 y FR4).

- 25 E117. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 22,
una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 23,
una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 24,
30 una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 25,
una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 26,

y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 27;

y

donde el anticuerpo comprende además una región marco VL (ej., FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87%, 90%, 92%, 93%, 95%, 97 %, 98%, o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con una región marco VL de una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID NO: 7, 47-69 o 92, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, diez, quince, pero menos de veinte alteraciones, ej., una sustitución o delección de aminoácidos, de la secuencia de aminoácidos de la región marco de VL completa (incluidos FR1, FR2, FR3 y FR4).

E118. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 22,
una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 23,
una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 24,
una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 25,
una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 26,

y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 27;

y

en donde el anticuerpo comprende una región marco VH (ej., FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87%, 90%, 92%, 93%, 95%, 97% , 98% o 100% de identidad de secuencia con una región marco VH dentro de la secuencia de aminoácidos de la línea germinal de IGHV3-07, IGHV1-46, IGHV3-23, IGHV3-30, IGHV1-69 o IGHV3-48, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos una, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, diez, quince, pero menos de veinte alteraciones, ej., una sustitución o delección de aminoácidos, de la secuencia de aminoácidos de toda la región marco VH (incluyendo FR1, FR2, FR3 y FR4).

E119. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 22,
una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 23,

una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 24,
una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 25,
una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 26,

y

5 una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 27;

y

en donde el anticuerpo comprende una región VH que comprende una variante de la
secuencia de aminoácidos VH de la línea germinal de IGHV3-07, IGHV1-46, IGHV3-23,
IGHV3-30, IGHV1-69 o IGHV3-48, donde la región VH comprende una o más

10 sustituciones en las posiciones T28, F29, A49, R71, N73, A74 y/o L78 (ej., una o más
sustituciones seleccionadas de T28N, F29I, A49G, R72A, N74T, A75S y L79A),
numeradas de acuerdo con la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 127, en
donde opcionalmente la región VH comprende las sustituciones:

(i) T28N y F29I;

15 (ii) T28N, F29I, y R72A;

(iii) T28N, F29I, R72A, A49G, y L79A;

(iv) T28N, F29I, R72A, N74T, y A75S; o

(v) T28N, F29I, R72A, A49G, L79A, N74T, y A75S,

en donde (i) - (v) están numerados de acuerdo con la secuencia de aminoácidos

20 de la SEC ID NO: 127, en donde opcionalmente:

la región VH comprende las sustituciones T28N, F29I, R72A, A49G, L79A, N74T
y A75S, numeradas según la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 127.

E120. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une
25 específicamente a la integrina $\alpha v \beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 22,
una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 23,
una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 24,

una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 25,

30 una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 26,

y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 27;

y

en donde el anticuerpo comprende una región VH que comprende uno o más (ej, 2, 3, 4, 5, 6 o todos) de los siguientes:

(a) un Asn en la posición 28,

(b) un Ile en posición 29,

5 (c) un Gly en posición 49,

(d) un Ala en la posición 72,

(e) un Thr en posición 74,

(f) un Ser en la posición 75, y

(g) un Ala en la posición 79, numerada según la secuencia de aminoácidos de la

10 SEC ID NO: 127, en donde opcionalmente la región VH comprende:

(i) un Asn en la posición 28 y un Ile en la posición 29;

(ii) un Asn en la posición 28, un Ile en la posición 29 y un Ala en la posición 72;

(iii) un Asn en la posición 28, un Ile en la posición 29, un Ala en la posición 72,
un Gly en la posición 49 y un Ala en la posición 79;

15 (iv) un Asn en la posición 28, un Ile en la posición 29, un Ala en la posición 72,
un Thr en la posición 74 y un Ser en la posición 75; o

(v) un Asn en la posición 28, un Ile en la posición 29, un Ala en la posición 72, un
Gly en la posición 49, un Ala en la posición 79, un Thr en la posición 74 y un Ser en la
posición 75, numerados según la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 127, en

20 donde opcionalmente:

la región VH comprende un Asn en la posición 28, un Ile en la posición 29, un
Ala en la posición 72, un Gly en la posición 49, un Ala en la posición 79, un Thr en la
posición 74 y un Ser en la posición 75, numerados según la secuencia de aminoácidos
de la SEC ID NO: 127.

25

E121. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une
específicamente a la integrina $\alpha v \beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 22,

una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 23,

30 una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 24,

una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 25,

una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 26,

y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 27;

y

en donde el anticuerpo comprende una región marco VL (ej., FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87%

5 90%, 92%, 93%, 95%, 97% , 98% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la línea germinal de IGKV1-39, IGKV2-28, IGKV2-30, IGKV4-1 o IGKV3-11, o una secuencia de aminoácidos que tenga al menos uno, dos, tres , cuatro, cinco, seis, siete, diez, quince, pero menos de veinte alternaciones, ej., una sustitución o delección de aminoácidos, de la secuencia de aminoácidos de toda la región marco de
10 VL (incluidos FR1, FR2, FR3 y FR4) .

E122. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 22,

15 una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 23,

una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 24,

una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 25,

una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 26,

y

20 una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 27;

y

en donde el anticuerpo comprende una región VL que comprende una variante de la secuencia de aminoácidos VL de la línea germinal de IGKV1-39, IGKV2-28, IGKV2-30, IGKV4-1 o IGKV3-11, en donde la región VL comprende una o más sustituciones en las
25 posiciones Y36 y/o L46 (ej., Y36F y/o L46R), numerados de acuerdo con la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 128, en donde opcionalmente la región VL comprende las sustituciones:

(i) L46R; o

(ii) L46R y Y36F,

30 en donde (i) y (ii) se numeran de acuerdo con la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 128, en donde opcionalmente la región VL comprende la sustitución L46R, numerada según la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 128.

E123. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta\text{8}$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 22,
una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 23,
una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 24,
una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 25,
una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 26,

y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 27;

y

en donde el anticuerpo comprende una región VL que comprende uno o ambos de los siguientes:

(a) un Tyr en la posición 36, y

(b) un Leu en la posición 46, numerado según la secuencia de aminoácidos de la

SEC ID NO: 128, en donde opcionalmente la región VL comprende:

(i) un Leu en la posición 46; o

(ii) un Leu en la posición 46 y un Tyr en la posición 36, numerados según la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 128, en donde opcionalmente:

la región VL comprende un Leu en la posición 46, numerado de acuerdo con la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 128.

E124. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta\text{8}$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 22,
una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 23,
una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 24,
una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 25,
una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 26,

y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 27;

y

que comprende además una región Fc de IgG1 murina que comprende una o más sustituciones seleccionadas de las posiciones E233, E318, K320 y R322 (ej., E233P,

E318A, K320A y R322A) numeradas según el esquema de numeración de Eu, ej., en relación con la Fc de IgG1 murina establecida en la Tabla 1.

E125. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E124, en donde la región Fc de IgG1 murina comprende las sustituciones E233P, E318A, K320A y R322A numeradas de acuerdo con el esquema de numeración de Eu, ej., en relación con la Fc de IgG1 murina expuesta en la Tabla 1.

E126. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha v \beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 22,

una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 23,

una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 24,

una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 25,

una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 26,

y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 27;

y

que comprende además una región Fc de IgG1 humana que comprende una o más

sustituciones seleccionadas de las posiciones L234, L235 y G237 (ej., L234A, L235A y G237A) numeradas según el esquema de numeración de Eu, ej., en relación con la Fc de IgG1 humana establecida en la Tabla 1.

E127. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E126, en donde la región Fc de IgG1 humana comprende las sustituciones L234A, L235A y G237A, numeradas según el esquema de numeración de Eu, ej., en relación con la Fc de IgG1 humana establecida en Tabla 1.

E128. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha v \beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 22,

una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 23,

una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 24,

una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 71,

una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 72,
y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 73;
y

5 en donde el anticuerpo comprende además una región marco VH (ej., uno, dos, tres o cuatro de FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92 %, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con una región marco VH de una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID
10 NO: 6, 34-46, 88-91, o 93.

E129. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 22,
15 una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 23,
una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 24,
una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 71,
una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 72,
y

20 una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 73;
y

en donde el anticuerpo comprende además una región marco VL (ej., uno, dos, tres o cuatro de FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92 %, 93%, 95%, 97%, 98% o
25 preferiblemente 100% de identidad de secuencia con una región marco VL de una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID NO: 7, 47-69, o 92.

E130. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana, que comprende:

30 una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 22,
una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 23,
una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 24,
una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 71,

una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 72,
y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 73;
y

5 en donde el anticuerpo comprende además una región marco VH (ej., uno, dos, tres o cuatro o FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92 %, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con una región marco VH dentro de la secuencia de aminoácidos de la línea germinal de IGHV3-07, IGHV1-46, IGHV3-23, IGHV3-30, IGHV1-69 o IGHV3-48.

10

E131. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 22,

una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 23,

15 una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 24,

una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 71,

una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 72,

y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 73;

20 y

en donde el anticuerpo comprende además una región marco VL (ej., uno, dos, tres o cuatro o FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92 %, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la línea germinal de IGKV1-39,

25 IGKV2-28, IGKV2-30, IGKV4-1 o IGKV3-11.

E132. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 22,

30 una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 23,

una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 24,

una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 71,

una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 72,

y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 73;
y
que comprende además una región Fc de IgG1 murina que comprende una o más
sustituciones seleccionadas de las posiciones E233, E318, K320 y R322 (ej., E233P,
5 E318A, K320A y R322A) numeradas según el esquema de numeración de Eu, ej., en
relación con la Fc de IgG1 murina establecida en la Tabla 1.

E133. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la
modalidad E132, en donde la región Fc de IgG1 murina comprende las sustituciones
10 E233P, E318A, K320A y R322A numeradas de acuerdo con el esquema de numeración
de Eu, ej., en relación con la Fc de IgG1 murina expuesta en la Tabla 1.

E134. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une
específicamente a la integrina $\alpha\beta$ 8 humana, que comprende:
15 una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 22,
una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 23,
una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 24,
una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 71,
una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 72,
20 y
una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 73;
y
que comprende además una región Fc de IgG1 humana que comprende sustituciones
L234A, L235A y G237A numeradas de acuerdo con el esquema de numeración de Eu,
25 ej., en relación con la Fc de IgG1 humana establecida en la Tabla 1.

E135. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une
específicamente a la integrina $\alpha\beta$ 8 humana, que comprende:
30 una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 28,
una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 29,
una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 30,
una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 31,
una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 32,
y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 33;
y

en donde el anticuerpo comprende además una región marco VH (ej., uno, dos, tres o cuatro o FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92 %, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con una región marco VH de una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID NO: 6, 34-46, 88-91, o 93.

10 E136. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 28,
una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 29,
una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 30,
15 una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 74,
una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 75,

y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 76;

y

20 en donde el anticuerpo comprende además una región marco VH (ej., uno, dos, tres o cuatro o FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92 %, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con una región marco VH de una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID
25 NO: 6, 34-46, 88-91, o 93.

E137. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 28,
30 una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 29,
una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 30,
una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 31,
una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 32,

y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 33;
y

en donde el anticuerpo comprende además una región marco VL (ej., uno, dos, tres o cuatro o FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92 %, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con una región marco VL de una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID NO: 7, 47-69, o 92.

10 E138. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 28,
una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 29,
una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 30,
15 una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 31,
una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 32,

y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 33;

y

20 en donde el anticuerpo comprende además una región marco VH (ej., uno, dos, tres o cuatro de FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92 %, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la línea germinal de IGHV3-07, IGHV1-46, IGHV3-23, IGHV3-30, IGHV1-69 o IGHV3-48.

25

E139. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, que comprende:

una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 28,
una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 29,
30 una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 30,
una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 31,
una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 32,

y

una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 33;
y
en donde el anticuerpo comprende además una región marco VL (ej., uno, dos, tres o cuatro de FR1, FR2, FR3 o FR4) que comprende una secuencia de aminoácidos que
5 tiene al menos 80%, 85%, 87%, 90%, 92 %, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la línea germinal de IGKV1-39, IGKV2-28, IGKV2-30, IGKV4-1 o IGKV3-11.

10 E140. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende:
una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 28,
una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 29,
una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 30,
una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 31,
15 una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 32,
y
una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 33;
y
que comprende además una región Fc de IgG1 humana que comprende una o más
20 sustituciones seleccionadas de las posiciones L234, L235 y G237 (ej., L234A, L235A y G237A) numeradas según el esquema de numeración de Eu, ej., en relación con la Fc de IgG1 humana establecida en la Tabla 1.

25 E141. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E140, en donde la región Fc de IgG1 humana comprende sustituciones L234A, L235A y G237A, numeradas según el esquema de numeración de Eu, ej., en relación con la Fc de IgG1 humana establecida en Tabla 1.

30 E142. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo es un anticuerpo multiespecífico (ej, un anticuerpo biespecífico).

E143. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo es un anticuerpo multivalente (ej., un anticuerpo bivalente).

5 E144. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo es un anticuerpo humanizado, un anticuerpo humano, un anticuerpo murino, un anticuerpo quimérico o un anticuerpo de camélido.

10 E145. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha v \beta 8$, que comprende una región VH y una región VL, donde la región VH y la región VL comprenden las secuencias de aminoácidos de:

(i) las SEC ID NO: 6 y 7, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente
15 100% de identidad de secuencia con la misma;

(ii) las SEC ID NO: 34 y 65, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(iii) las SEC ID NO: 34 y 62, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos
20 que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(iv) las SEC ID NO: 34 y 66, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

25 (v) las SEC ID NO: 34 y 63, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(vi) las SEC ID NO: 34 y 64, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente
30 100% de identidad de secuencia con la misma;

(vii) las SEC ID NO: 37 y 65, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(viii) las SEC ID NO: 37 y 62, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

5 (ix) las SEC ID NO: 37 y 66, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(x) las SEC ID NO: 37 y 63, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

10 (xi) las SEC ID NO: 37 y 64, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xii) las SEC ID NO: 36 y 65, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente
15 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xiii) las SEC ID NO: 36 y 62, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xiv) las SEC ID NO: 36 y 66, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente
20 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xv) las SEC ID NO: 36 y 63, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

25 (xvi) las SEC ID NO: 36 y 64, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xvii) las SEC ID NO: 35 y 65, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente
30 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xviii) las SEC ID NO: 35 y 62, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xix) las SEC ID NO: 35 y 66, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

5 (xx) las SEC ID NO: 35 y 63, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xxi) las SEC ID NO: 35 y 64, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

10 (xxii) las SEC ID NO: 38 y 65, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xxiii) las SEC ID NO: 38 y 62, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o
15 preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xxiv) las SEC ID NO: 38 y 66, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xxv) las SEC ID NO: 38 y 63, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos
20 que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xxvi) las SEC ID NO: 38 y 64, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

25 (xxvii) las SEC ID NO: 20 y 21, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xxviii) las SEC ID NO: 88 y 47, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o
30 preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xxix) las SEC ID NO: 89 y 47, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xxx) las SEC ID NO: 90 y 47, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

5 (xxxi) las SEC ID NO: 90 y 92, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xxxii) las SEC ID NO: 39 y 47, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

10 (xxxiii) las SEC ID NO: 6 y 67, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xxxiv) las SEC ID NO: 6 y 68, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o
15 preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xxxv) las SEC ID NO: 6 y 69, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xxxvi) las SEC ID NO: 93 y 67, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o
20 preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

(xxxvii) las SEC ID NO: 93 y 68, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma;

25 (xxxviii) las SEC ID NO: 93 y 69, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98%, o preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma; o

(xxxix) las SEC ID NO: 93 y 7, respectivamente, o una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o
30 preferiblemente 100% de identidad de secuencia con la misma, en donde de manera óptima:

la región VH y la región VL comprenden las secuencias de aminoácidos de

(i) las SEC ID NO: 6 y 7, respectivamente;

(ii) las SEC ID NO: 34 y 65, respectivamente;

- (iii) las SEC ID NO: 34 y 62, respectivamente;
- (iv) las SEC ID NO: 34 y 66, respectivamente;
- (v) las SEC ID NO: 34 y 63, respectivamente;
- (vi) las SEC ID NO: 34 y 64, respectivamente;
- 5 (vii) las SEC ID NO: 37 y 65, respectivamente;
- (viii) las SEC ID NO: 37 y 62, respectivamente;
- (ix) las SEC ID NO: 37 y 66, respectivamente;
- (x) las SEC ID NO: 37 y 63, respectivamente;
- (xi) las SEC ID NO: 37 y 64, respectivamente;
- 10 (xii) las SEC ID NO: 36 y 65, respectivamente;
- (xiii) las SEC ID NO: 36 y 62, respectivamente;
- (xiv) las SEC ID NO: 36 y 66, respectivamente;
- (xv) las SEC ID NO: 36 y 63, respectivamente;
- (xvi) las SEC ID NO: 36 y 64, respectivamente;
- 15 (xvii) las SEC ID NO: 35 y 65, respectivamente;
- (xviii) las SEC ID NO: 35 y 62, respectivamente;
- (xix) las SEC ID NO: 35 y 66, respectivamente;
- (xx) las SEC ID NO: 35 y 63, respectivamente;
- (xxi) las SEC ID NO: 35 y 64, respectivamente;
- 20 (xxii) las SEC ID NO: 38 y 65, respectivamente;
- (xxiii) las SEC ID NO: 38 y 62, respectivamente;
- (xxiv) las SEC ID NO: 38 y 66, respectivamente;
- (xxv) las SEC ID NO: 38 y 63, respectivamente;
- (xxvi) las SEC ID NO: 38 y 64, respectivamente;
- 25 (xxvii) las SEC ID NO: 20 y 21, respectivamente;
- (xxviii) las SEC ID NO: 88 y 47, respectivamente;
- (xxix) las SEC ID NO: 89 y 47, respectivamente;
- (xxx) las SEC ID NO: 90 y 47, respectivamente;
- (xxxi) las SEC ID NO: 90 y 92, respectivamente;
- 30 (xxxii) las SEC ID NO: 39 y 47, respectivamente;
- (xxxiii) las SEC ID NO: 6 y 67, respectivamente;
- (xxxiv) las SEC ID NO: 6 y 68, respectivamente;
- (xxxv) las SEC ID NO: 6 y 69, respectivamente;
- (xxxvi) las SEC ID NO: 93 y 67, respectivamente;

(xxxvii) las SEC ID NO: 93 y 68, respectivamente;
(xxxviii) las SEC ID NO: 93 y 69, respectivamente; o
(xxxix) las SEC ID NO: 93 y 7, respectivamente.

- 5 E146. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende o tiene una región constante de cadena pesada (Fc) elegida entre, ej., las regiones constantes de cadena pesada de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD e IgE.
- 10 E147. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo pertenece a un isotipo elegido a partir de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 o cualquier variante de los mismos.
- E148. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera
15 de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo comprende una región constante de cadena pesada de IgG1 o IgG2 (ej., IgG1 humana o IgG2 humana).
- E149. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende o tiene una región constante de cadena
20 pesada, es IgG1 humana.
- E150. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades precedentes, que comprende o tiene una región constante de cadena ligera elegida a partir de, ej., las regiones constantes de cadena ligera de kappa
25 o lambda.
- E151. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende o tiene una región constante de cadena ligera kappa (ej., kappa humana).
30
- E152. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende una región Fc de la cadena pesada que tiene una región de bisagra alterada para reducir la función de la célula efectora.

E153. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que tiene una citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) reducida y/o una citotoxicidad dependiente de complemento (CDC) reducida.

5

E154. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende una región de bisagra que tiene una sustitución en al menos una posición de L234, L235 o G237, ej., en comparación con una IgG1 humana, numerada de acuerdo con el esquema de numeración Eu.

10

E155. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende una región Fc de IgG1 humana que comprende al menos una sustitución seleccionada a partir de L234A, L235A y G237A, numerada según el esquema de numeración Eu.

15

E156. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que tiene una región bisagra que comprende la secuencia de aminoácidos de EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAP (SEC ID NO: 126).

20 E157. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que se modifica para eliminar un epítipo inmunogénico de células T.

25 E158. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E157, que comprende una VL que comprende al menos una sustitución seleccionada del grupo que consta de L30S, N58S, M56A, M94Q, L97Y y Q105G, numeradas según la SEC ID NO: 47.

30 E159. El anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, tiene al menos una de las siguientes propiedades:

- (i) una afinidad de unión, expresada como KD, por la integrina $\alpha\beta 8$ humana que es menor que el anticuerpo murino ADWA11, ej., menor que 536 pM;

- (ii) una KD para la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana que es menor o igual a 100 pM para la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana purificada;
 - (iii) una KD para la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ de ratón que es menor de 100 pM;
 - (iv) una KD para la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ de mono *cynomolgus* que es menor de 100 pM;
 - (v) una KD para la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ de rata que es aproximadamente 160 pM;
 - (vi) afinidad aproximadamente equivalente para al menos dos, tres o la totalidad de la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ de humano, *cynomolgus*, ratón y rata, ej., con una KD que es menor que 100 pM, por ejemplo, según se determina usando un ensayo de afinidad Biacore;
 - (vii) una CI50 para inhibir la transactivación de TGF β que es menor de 183 pM;
 - (viii) una CI50 para inhibir la transactivación de TGF β en células U251 que es de aproximadamente 100 pM a aproximadamente 300 pM;
 - (ix) una EC50 para células U251 de aproximadamente 100 pM a aproximadamente 400 pM;
 - (x) una EC50 para células C8-S de aproximadamente 110 pM a aproximadamente 180 pM;
 - (xi) al menos un parámetro farmacocinético (PK) humano previsto elegido entre:
 - a. un aclaramiento del compartimento central (CL) de aproximadamente 0.12 - 0.15 ml/h/kg;
 - b. un aclaramiento de distribución intercompartimental (CLF) de aproximadamente 0.15 - 0.51 ml/h/kg;
 - c. un volumen de distribución para el compartimento central (V1) de aproximadamente 36 - 39 ml/kg;
 - d. un volumen de distribución para el compartimento periférico (V2) de aproximadamente 21 – 33 ml/kg; y/o
 - e. una semivida terminal ($t_{1/2}$) de aproximadamente 12-17 días; y
 - (xii) sin unión detectable a receptores Fc γ humanos o C1q.
- E160. El anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, tiene al menos una de las siguientes propiedades:
- (i) se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ pero no a otras integrinas;

- (ii) reduce una interacción entre la integrina $\alpha\beta 8$ y el péptido asociado a la latencia (LAP);
- (iii) reduce la señalización de TGF- β ;
- (iv) bloquea eficazmente la activación de TGF β mediada por integrina $\alpha\beta 8$ con una CI₅₀ ≤ 10 nM;
- (v) tiene una K_d comparable (dentro de 5 veces) hacia un ortólogo de primates no humanos (NHP);
- (vi) la selectividad se une a $\alpha\beta 8$ humano y no se une de manera detectable a un homólogo de $\alpha\beta 8$ (ej., $\alpha\beta 1$, $\alpha\beta 3$, $\alpha\beta 5$ y $\alpha\beta 6$);
- (vii) provoca la supresión del crecimiento y/o la regresión completa del tumor en un sujeto humano o un modelo animal de cáncer, ej., carcinoma de células escamosas, cáncer de mama y/o cáncer de colon, solo o en combinación con un agente inmunomodulador, ej., un modulador de inhibidores de puntos de control, ej., inhibidores de PD-1, PD-L1, CTLA-4, o un agonista de una molécula estimulante, ej., 4-1BB;
- (viii) provoca la supresión del crecimiento y/o la regresión completa del tumor en un modelo animal para un cáncer en combinación con una terapia contra el cáncer, ej., radioterapia;
- (ix) muestra al menos un 60 % de reducción en el crecimiento tumoral en un modelo de injerto de tumor singénico, ej., cuando se administra a ≤ 10 mg/kg, solo o en combinación con un agente inmunomodulador (ej., un inhibidor de PD-1, PD-L1, CTLA -4);
- (x) aumenta una respuesta antitumoral en presencia de uno o más inmunomoduladores, ej., un antagonista de un inhibidor de punto de control o un agonista de un activador de punto de control, ej., un antagonista de PD-1, PD-L1 o CTLA-4, o un activador de una respuesta inmune, ej., agonista 4-1BB, cuando se administra a un sujeto, ej., un ratón o un sujeto humano;
- (xi) tiene una eficacia que no depende de la expresión de la integrina $\alpha\beta 8$ en un modelo tumoral;
- (xii) puede aumentar la abundancia de células T CD8⁺ GzmB⁺ en el microambiente tumoral, ej., como monoterapia;
- (xiii) muestra una disminución, ej., una disminución de al menos > 80 %, en el crecimiento tumoral cuando se usa en combinación con un antagonista de un inhibidor de punto de control (ej., un anticuerpo anti-PD-1 o anti-PD-L1), ej.,

en un modelo singénico de carcinoma de células escamosas, cáncer de mama y/o cáncer de colon;

(xiv) muestra una mejora estadísticamente significativa en la supervivencia global de un sujeto, según lo determinado por un análisis de Kaplan-Meier;

5 (xv) muestra un alto grado de estabilidad térmica;

(xvi) muestra una agregación mínima a alta concentración; y

(xvii) puede mostrar una expresión y pureza reproducibles en condiciones de fabricación a gran escala.

10 E161. El anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde dicho anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, tiene al menos una de las siguientes propiedades:

(i) una afinidad de unión, expresada como KD, por la integrina $\alpha v \beta 8$ humana que es menor que la KD por el anticuerpo murino ADWA11, por ejemplo, menos de 536 pM;

15 (ii) una KD para la integrina $\alpha v \beta 8$ humana que es menor o igual a 100 pM para la integrina $\alpha v \beta 8$ humana purificada;

(iii) una KD para la integrina $\alpha v \beta 8$ de ratón que es menor de 100 pM;

20 (iv) una KD para la integrina $\alpha v \beta 8$ de mono *cynomolgus* que es menor de 100 pM;

(v) una KD para la integrina $\alpha v \beta 8$ de rata que es aproximadamente 160 pM;

25 (vi) afinidad aproximadamente equivalente para al menos dos, tres o la totalidad de la integrina $\alpha v \beta 8$ de humano, *cynomolgus*, ratón y rata, ej., con una KD que es menor que 100 pM, según se determina usando un ensayo de afinidad Biacore;

(vii) una CI50 para inhibir la transactivación de TGF β que es menor de 183 pM;

(viii) una CI50 para inhibir la transactivación de TGF β en células U251 de aproximadamente 100 pM a aproximadamente 300 pM;

30 (ix) una EC50 para células U251 de aproximadamente 126 pM con una desviación estándar de más o menos 34 pM;

(x) una EC50 para células U251 de aproximadamente 256 pM con una desviación estándar de más o menos 115 pM;

(xi) una EC50 para células U251 de aproximadamente 80 pM a aproximadamente 400 pM;

- (xii) una EC50 para células C8-S de aproximadamente 115 pM;
- (xiii) una EC50 para células C8-S de aproximadamente 145 pM con una desviación estándar de más o menos 23.7 pM;
- (xiv) una EC50 para células C8-S de aproximadamente 110 pM a
5 aproximadamente 180 pM;
- (xv) al menos un parámetro farmacocinético (PK) humano previsto elegido entre:
- a. un aclaramiento del compartimento central (CL) de aproximadamente 0.12 - 0.15 ml/h/kg;
- b. un aclaramiento de distribución intercompartimental (CLF) de
10 aproximadamente 0.15 - 0.51 ml/h/kg;
- c. un volumen de distribución para el compartimento central (V1) de aproximadamente 36 - 39 ml/kg;
- d. un volumen de distribución para el compartimento periférico (V2) de aproximadamente 21 – 33 mL/kg; y/o
- 15 e. una semivida terminal ($t_{1/2}$) de aproximadamente 12-17 días; y
- (xvi) sin unión detectable a receptores Fcγ humanos o C1q.

E162. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que se une a la integrina $\alpha\beta 8$ humana con una KD
20 menor o igual a 100 pM para la integrina $\alpha\beta 8$ humana purificada.

E163. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que se une a la integrina $\alpha\beta 8$ humana con una KD menor que 536 pM.

25 E164. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que inhibe la activación de TGFβ con una CI50 menor de 183 pM.

30 E165. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que inhibe la activación de TGFβ con una CI50 de 100 pM a aproximadamente 300 pM.

E166. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que inhibe la activación de TGFβ en células U251 con una CI50 de 199 +/- 93,6 pM.

- 5 E167. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 E168. Una molécula de ácido nucleico que codifica el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades E1-E166.

E169. Una molécula de ácido nucleico que comprende:

- 15 (i) una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 1, 183, 189 o 191 y que codifica una cadena pesada;
- (ii) una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 190 y que codifica una región variable de cadena pesada;
- 20 (iii) una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 192 o 193 y que codifica una región constante de cadena pesada; o
- (iv) una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con una secuencia de ácido nucleico del inserto del plásmido depositado con la ATCC y que
- 25 tiene el número de acceso PTA-124917.

E170. Una molécula de ácido nucleico que comprende:

- 30 (i) una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 4 o 185 y que codifica una cadena ligera;
- (ii) una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 186 y que codifica una región variable de cadena ligera;

- (iii) una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 194 y que codifica una región constante de cadena ligera; o
- (iv) una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con una secuencia de ácido nucleico del inserto del plásmido depositado con la ATCC y que tiene el número de acceso PTA-124918.

E171. Una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 1 o 183 y una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 4.

E172. Una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 189 o 191 y una secuencia de nucleótidos que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 185.

E173. Un vector que comprende la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las modalidades E168-E172.

E174. Una célula huésped que comprende la molécula de ácido nucleico de cualquiera de las modalidades E168-E172 o el vector de la modalidad E173.

E175. La célula huésped de la modalidad E174, en donde la célula huésped es una célula de mamífero, ej., una célula humana.

E176. La célula huésped de la modalidad E175, en donde la célula huésped es una célula CHO, una célula COS, una célula HEK-293, una célula NS0, una célula PER.C6® o una célula Sp2.0.

E177. Un método para producir un anticuerpo aislado, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ de humano, que comprende cultivar la célula huésped de cualquiera de las modalidades E174-E176, en condiciones en donde dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se expresa mediante dicha célula huésped.

E178. El método de la modalidad E177, que comprende además aislar el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.

E179. Un método para reducir la señalización de TGF β en un sujeto que lo necesita, el método que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades E1-E166, o la composición farmacéutica de cualquiera de la modalidad E167.

E180. Un método para reducir la actividad de la integrina $\alpha\beta 8$ en un sujeto que lo necesita, el método que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades E1-E166, o la composición farmacéutica de la modalidad E167.

E181. Un método para tratar una enfermedad, trastorno o afección asociada con o mediada por la señalización aberrante (ej., aumentada) de TGF β , que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades E1-E166, o la composición farmacéutica de la modalidad E167.

E182. Un método para inducir una respuesta antitumoral en un sujeto, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades E1-E166, o la composición farmacéutica de cualquier de las modalidades E167, opcionalmente, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra en combinación con una segunda terapia, opcionalmente en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, y la segunda terapia

se administran simultáneamente, secuencialmente o por separado, en donde opcionalmente:

(i) el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra antes de la administración de la segunda terapia, o

5 (ii) el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra después de la administración de la segunda terapia.

E183. El anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades E1-E166, o la composición farmacéutica de la modalidad E167, para uso
10 en la reducción de la actividad de la integrina $\alpha\beta 8$ en un sujeto.

E184. Un método para tratar un cáncer, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades E1-E166, o la composición
15 farmacéutica de la modalidad E167.

E185. El método de la modalidad E184, en donde dicho anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, tiene al menos una de las siguientes propiedades:

- 20 (i) se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ (ej., integrina $\alpha\beta 8$ de humano, ratón, mono *cynomolgus* y/o rata);
- (ii) reduce una interacción entre la integrina $\alpha\beta 8$ y el péptido asociado a la latencia (LAP);
- (iii) reduce la señalización de TGF- β ;
- 25 (iv) bloquea la activación de TGF β mediada por integrina $\alpha\beta 8$ con una $CI_{50} \leq 10$ nM;
- (v) tiene una Kd comparable (dentro de 5 veces) hacia un ortólogo de primates no humanos (NHP);
- (vi) la selectividad se une a $\alpha\beta 8$ humano y no se une de manera detectable a un homólogo de $\alpha\beta 8$ (ej., $\alpha\beta 1$, $\alpha\beta 3$, $\alpha\beta 5$ y $\alpha\beta 6$);
- 30 (vii) provoca la supresión del crecimiento y/o la regresión completa del tumor en un modelo animal para un cáncer elegido entre, por ejemplo, carcinoma de células escamosas, cáncer de mama y cáncer de colon, solo o en combinación con un agente inmunomodulador, ej., moduladores de

- inhibidores de puntos de control, ej., inhibidores de PD-1, CTLA-4 o un agonista de una molécula estimulante, ej., 4-1BB;
- 5 (viii) provoca la supresión del crecimiento y/o la regresión completa del tumor en un modelo animal para un cáncer en combinación con una terapia contra el cáncer, ej., radioterapia;
- (ix) muestra al menos un 60% de reducción en el crecimiento tumoral en un modelo de injerto tumoral singénico, ej., cuando se administra a $\leq 10\text{mg/kg}$;
- 10 (x) aumenta una respuesta antitumoral en presencia de uno o más inmunomoduladores, ej., un antagonista de un inhibidor de punto de control, ej., un antagonista de PD-1 o CTLA-4, o un activador de una respuesta inmune, ej., agonista 4-1BB, cuando se administra a un sujeto, ej., un ratón o un sujeto humano;
- (xi) tiene una eficacia que no depende de la expresión de la integrina $\alpha\beta 8$ en un modelo tumoral;
- 15 (xii) es suficiente para aumentar la abundancia de células T CD8⁺ GzmB⁺ en el microambiente tumoral, ej., como monoterapia;
- (xiii) muestra al menos una disminución de $> 80\%$, en el crecimiento tumoral cuando se usa en combinación con un antagonista de un inhibidor de punto de control (ej., un anticuerpo anti-PD-1 o anti-PD-L1), ej., en un modelo
- 20 singénico de carcinoma de células escamosas, cáncer de mama y/o cáncer de colon;
- (xiv) muestra una mejora estadísticamente significativa en la supervivencia global de un sujeto, ej., un ser humano o un ratón, según se determina mediante un análisis de Kaplan-Meier;
- 25 (xv) muestra un alto grado de estabilidad térmica;
- (xvi) muestra una agregación mínima a alta concentración; y
- (xvii) puede mostrar una expresión y pureza reproducibles en condiciones de fabricación a gran escala.
- 30 E186. El método de la modalidad E184 o E185, en donde dicho anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, tiene al menos una de las siguientes propiedades:

- (i) una afinidad de unión, expresada como KD, por la integrina $\alpha\beta 8$ humana que es menor que la KD por el anticuerpo murino ADWA11, por ejemplo, menos de 536 pM;
- (ii) una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ humana que es menor o igual a 100 pM para la integrina $\alpha\beta 8$ humana purificada;
- (iii) una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de ratón que es menor de 100 pM;
- (iv) una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de mono *cynomolgus* que es menor de 100 pM;
- (v) una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de rata que es aproximadamente 160 pM;
- (vi) muestra afinidad aproximadamente equivalente para al menos dos, tres o la totalidad de la integrina $\alpha\beta 8$ de humano, *cynomolgus*, ratón y rata, ej., con una KD que es menor que 100 pM, por ejemplo, según se determina usando un ensayo de afinidad Biacore;
- (vii) una CI50 para inhibir la transactivación de TGF β que es menor de 183 pM;
- (viii) una CI50 para inhibir la transactivación de TGF β en células U251 de aproximadamente 199 +/- 93.6 pM;
- (ix) una CI50 para inhibir la transactivación de TGF β que es de aproximadamente 100 pM a aproximadamente 300 pM.
- (x) una EC50 para células U251 de aproximadamente 126 pM con una desviación estándar de más o menos 34 pM;
- (xi) una EC50 para células U251 de aproximadamente 256 pM con una desviación estándar de más o menos 115 pM;
- (xii) una EC50 para células U251 de aproximadamente 80 pM a aproximadamente 400 pM;
- (xiii) una EC50 para células C8-S de aproximadamente 115 pM;
- (xiv) una EC50 para células C8-S de aproximadamente 145 pM con una desviación estándar de más o menos 23.7 pM;
- (xv) una EC50 para células C8-S de aproximadamente 110 pM a aproximadamente 180 pM;
- (xvi) al menos un parámetro farmacocinético (PK) humano previsto elegido entre:
 - a. un aclaramiento del compartimento central (CL) de aproximadamente 0.12 - 0.15 ml/h/kg;
 - b. un aclaramiento de distribución intercompartimental (CLF) de aproximadamente 0.15 - 0.51 ml/h/kg;

- c. un volumen de distribución para el compartimento central (V1) de aproximadamente 36 - 39 ml/kg;
 - d. un volumen de distribución para el compartimento periférico (V2) de aproximadamente 21 – 33 ml/kg; y/o
 - e. una semivida terminal ($t_{1/2}$) de aproximadamente 12-17 días; y
- (xvii) no muestra una unión detectable a los receptores Fcγ humanos o C1q.

E187. El método de cualquiera de las modalidades E184-E186, en donde dicho anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, es según cualquiera de las modalidades E1-E166, o la composición farmacéutica de la modalidad E167.

E188. El método de cualquiera de las modalidades E184-E187, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra en una cantidad suficiente para aumentar la infiltración de células que expresan células CD45+, células T CD3+, células T CD4+, células T CD8+ y/o granzima B.

E189. El método de cualquiera de las modalidades E184-E188, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra en una cantidad suficiente para aumentar la infiltración de células T CD8+.

E190. El método de cualquiera de las modalidades E184-E189, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra en una cantidad suficiente para aumentar la expresión de granzima B en las células T CD8 +.

E191. El método de cualquiera de las modalidades E184-E190, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra en una cantidad suficiente para aumentar la acumulación de macrófagos inflamatorios que tienen un nivel elevado de expresión de Ly6G.

E192. El método de cualquiera de las modalidades E184-E191, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra en una cantidad suficiente para aumentar la acumulación de macrófagos inflamatorios CD45+CD11b+CD11c-Ly6G-Ly6C^{high}CD206^{low}

E193. El método de cualquiera de las modalidades E184-E192, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra en una cantidad suficiente para aumentar la respuesta a una segunda terapia.

5 E194. El método de cualquiera de las modalidades E184-E193, en donde la eficacia del anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, cuando se administra a un modelo de tumor animal no depende de la expresión de integrina $\alpha\beta8$ del modelo tumoral.

10 E195. El método de cualquiera de las modalidades E184-E194, en donde la administración de dicho anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se produce en combinación con una segunda terapia.

15 E196. El método de la modalidad E195, en donde la segunda terapia comprende una terapia contra el cáncer, un agente citotóxico o citostático, ej., un agente quimioterapéutico, un tratamiento hormonal, una vacuna y/o una inmunoterapia.

E197. El método de la modalidad E195 o E196, en donde la segunda terapia es o comprende cirugía, radiación, criocirugía y/o termoterapia.

20 E198. El método de cualquiera de las modalidades E195-E197, en donde la segunda terapia comprende un modulador, ej., un inhibidor o un agonista, de una molécula de punto de control inmune, en donde opcionalmente la segunda terapia es o comprende un modulador de una molécula de punto de control inmune seleccionada del grupo que
25 consiste en PD1, PD-L1, 4-1BB, OX40, CTLA-4, PD-L2, TIM-3, LAG-3, VISTA, CD160, BTLA, TIGIT, 2B4, TGF β , LAIR1 y una combinación de los mismos.

E199. El método de la modalidad E198, en donde el inhibidor de una molécula de punto de control inmune es un inhibidor de PD1, PD-L1, CTLA-4, PD-L2, TIM-3, LAG-3,
30 VISTA, BTLA, TIGIT, 2B4, TGF β , o LAIR1.

E200. El método de la modalidad E199, en donde el inhibidor de una molécula de punto de control inmune es un inhibidor de PD1, ej., un anticuerpo contra PD1.

E201. El método de la modalidad E199, en donde el inhibidor de una molécula de punto de control inmune es un inhibidor de CTLA-4, ej., un anticuerpo contra CTLA-4 o una fusión de CTLA-4 soluble.

- 5 E202. El método de la modalidad E195-E201, en donde la segunda terapia comprende un agonista de una molécula coestimuladora.

E203. El método de la modalidad E202, en donde el agonista de una molécula coestimuladora se selecciona de al menos uno de 4-1BB (CD137), OX40, CD2, CD27, 10 CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS CD278), GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160 o B7-H3.

E204. El método de la modalidad E202, en donde el agonista de una molécula coestimuladora es un agonista de 41-BB.

15 E205. El método de la modalidad E195-E204, en donde la segunda terapia comprende un inhibidor de PARP1 (ej., olaparib, rucaparib, niraparib, veliparib, iniparib, talazoparib, 3-aminobenzamida, CEP 9722, E7016, BSI-201, KU-0059436, AG014699 , MK-4827 o BGB-290).

20 E206. El método de la modalidad E184-E205, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en un tumor sólido, un cáncer hematológico (ej., leucemia, linfoma, mieloma, ej., mieloma múltiple) y una lesión metastásica.

- 25 E207. El método de la modalidad E206, en donde el cáncer es un tumor sólido.

E208. El método de la modalidad E206 o E207, en donde el cáncer es un tumor sólido y se elige a partir de una neoplasia maligna, ej., sarcomas y carcinomas, ej., adenocarcinomas de los diversos sistemas de órganos, tales como los que afectan al pulmón (ej., un cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC)), mama, ovario, 30 linfóide, gastrointestinal (ej., colon), anal, genitales y del tracto genitourinario (ej., renal, urotelial, células de la vejiga, próstata), faringe, SNC (ej., cerebro, neural o células gliales), cabeza y cuello (ej., carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), piel (ej., melanoma, ej., un melanoma avanzado), páncreas, colon, recto,

renal (ej., un carcinoma de células renales), hígado, cáncer de intestino delgado y cáncer de esófago, cáncer gastroesofágico, cáncer de tiroides y cáncer de cuello uterino.

5 E209. El método de cualquiera de las modalidades E184-E208, en donde el cáncer es una enfermedad linfoproliferativa (ej., una enfermedad linfoproliferativa postrasplante) o un cáncer hematológico, linfoma de células T, linfoma de células B, un linfoma no Hodgkin o un leucemia (ej., leucemia mieloide o leucemia linfoide).

10 E210. El método de cualquiera de las formas de modalidad E184-E209, en donde el cáncer es un cáncer en estadio temprano, intermedio, tardío o metastásico.

E211. El método de cualquiera de las formas de modalidad E184-E210, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en un carcinoma de células renales, un
15 cáncer de ovario y un carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello.

E212. El método de la modalidad E211, que comprende además administrar un inhibidor de un inhibidor de punto de control, ej., un inhibidor de PD-1, PD-L1 o CTLA-4.

20 E213. El método de la modalidad E212, en donde el inhibidor de PD-L1 no es avelumab.

E214. El método de la modalidad E211 o E212, en donde el cáncer es un cáncer renal, ej., un carcinoma de células renales (CCR).

25 E215. El método de la modalidad E214, en donde el cáncer es un cáncer renal seleccionado del grupo que consiste en un CCR metastásico, un carcinoma de células renales de células claras (CCRcc), un carcinoma de células renales de células no claras (CCRnc) y un carcinoma de células renales de alto riesgo.

30 E216. El método de la modalidad E215, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra como terapia de primera o segunda línea.

E217. El método de cualquiera de las modalidades E184-E216, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra como terapia de primera línea.

- 5 E218. El método de cualquiera de las modalidades E184-E216, en donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra como una terapia de segunda línea.

- 10 E219. El método de cualquiera de las modalidades E184-E212, en donde el cáncer es un cáncer de ovario.

- 15 E220. El método de la modalidad E219, en donde la segunda terapia es un inhibidor de PARP1 (ej., olaparib, rucaparib, niraparib, veliparib, iniparib, talazoparib, 3-aminobenzamida, CEP 9722, E7016, BSI-201, KU-0059436, AG014699, MK -4827 o BGB-290).

- 20 E221. El método de la modalidad E219, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra como una terapia de segunda línea, opcionalmente en donde el sujeto es resistente al platino.

E222. El método de la modalidad E219, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se administra como terapia de primera línea.

- 25 E223. El método de cualquiera de las modalidades E184-E222, en donde el cáncer es un carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello.

E224. El método de la modalidad E223, en donde el método comprende además la administración de radioterapia.

- 30 E225. El método de la modalidad E223 o E224, en donde el cáncer es un cáncer resistente al platino y/o recurrente.

E226. El método de cualquiera de las modalidades E179-E225, en donde dicho sujeto es un ser humano.

E227. El método de cualquiera de las modalidades E179-E226, que comprende administrar dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, o composición farmacéutica, por vía intravenosa.

5

E228. El método de cualquiera de las modalidades E179-E227, que comprende administrar dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, o composición farmacéutica, por vía subcutánea.

10 E229. El método de cualquiera de las modalidades E179-E228, en donde dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, o composición farmacéutica, se administra aproximadamente dos veces por semana, una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas, una vez cada cinco semanas, una vez cada seis semanas, una vez cada siete semanas,
15 una vez cada ocho semanas, una vez cada nueve semanas, una vez cada diez semanas, dos veces al mes, una vez al mes, una vez cada dos meses, una vez cada tres meses, una vez cada cuatro meses, una vez cada cinco meses, una vez cada seis meses, una vez cada siete meses, una vez cada ocho meses, una vez cada nueve meses, una vez cada diez meses, una vez cada once meses o una vez cada doce
20 meses.

E230. El método de cualquiera de las modalidades E179-E229, en donde el anticuerpo, o fragmentos de unión a antígeno del mismo, se administran cada dos semanas, ej., hasta 12 veces (ej., hasta 10, 8, 6, 5, 4 o 3 veces).

25

E231. El método de la modalidad E230, en donde cada administración comprende de 5 a 10 mg/kg (ej., 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mg/kg) del anticuerpo, o fragmentos de unión a antígeno del mismo.

30 E232. El método de la modalidad E231, en donde cada administración comprende aproximadamente 7 mg/kg.

E233. El método de cualquiera de las modalidades E179-E229, en donde el anticuerpo, o fragmentos de unión a antígeno del mismo, se administran cada cuatro semanas, ej., hasta 6 veces (ej., hasta 6, 5, 4, 3, 2 o 1 vez).

- 5 E234. El método de la modalidad E233, en donde cada administración comprende de 10 a 15 mg/kg (ej., 10, 11, 12, 13, 14 o 15 mg/kg) del anticuerpo o fragmentos de unión a antígeno del mismo.

- 10 E235. El método de la modalidad E234, en donde cada administración comprende aproximadamente 12 mg/kg.

- 15 E236. Un método para detectar la integrina $\alpha\beta8$ (ej., la integrina $\alpha\beta8$ humana) en una muestra, tejido o célula usando el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades E1-E166, o la composición farmacéutica de la modalidad E167, que comprende poner en contacto la muestra, tejido o célula con el anticuerpo y detectar el anticuerpo.

- 20 E237. Un kit que comprende el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades E1-E166, o la composición farmacéutica de la modalidad E167.

- 25 E238. El anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades E1-E166, o la composición farmacéutica de la modalidad E167, para uso como medicamento, ej., en cualquiera de las modalidades del método descritas en este documento.

E239. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta8$, en donde el anticuerpo o fragmento es al menos un anticuerpo o fragmento seleccionado del grupo que consiste en:

- 30 (a) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (CDR-L1) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 11; una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 12; una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 13;

una CDR1 de cadena pesada (CDR-H1) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 8; una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 9; y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 10;

- 5 En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 17; una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 18; una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 19; una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 14; una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 15; y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 16.
- 10
- (c) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región ligera variable (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por el inserto del plásmido depositado con la ATCC y que tiene el número de acceso PTA-124918, y una región pesada variable (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por el inserto del plásmido depositado con la ATCC que tiene el Número de Acceso PTA-124917;
- 15
- (d) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 7, y una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 6;
- 20
- (e) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEC ID NO: 62-66, y una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEC ID NO: 34-38;
- 25
- (f) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEC ID NO: 47 y 92, y una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEC ID NO: 39 y 88-91;
- 30

- 5 (g) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que comprende la SEC ID NO: 7 y 67-69, y una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que comprende la SEC ID NO: 6 y 93;
- 10 (h) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consta de la SEC ID NO: 7, 47-69 y 92, y una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consta de la SEC ID NO: 6, 34-46, 88-91 y 93;
- 15 (i) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5, y una región de cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 2;
- 20 (j) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5, y una región de HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 3;
- 25 (k) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 123, y una región de HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 124 o 182;
- 30 (l) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región VL codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 186 y una región VH codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 190; y
- (m) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de LC codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 185 y una región de HC codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 189 o 191.

E240. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de la modalidad E239, que comprende una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de

la SEC ID NO: 7, y una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6.

5 E241. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de las modalidades E239 o E240, que comprende una región VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEC ID NO: 7, y una región VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEC ID NO: 6.

10 E242. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de la modalidad E239, que comprende una región de LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5, y una región de HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 2 o 3.

15 E243. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de las modalidades E239 o E242, que comprende una región de LC que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEC ID NO: 5, y una región de HC que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEC ID NO: 2 o 3.

20 E244. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$, en donde el anticuerpo o fragmento comprende una región VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95 %, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia
25 con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consta de la SEC ID NO: 6, 34-46, 88-91 y 93, y/o una región VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consta de la SEC ID NO: 7, 47-69 y 92.

30 E245. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$, en donde el anticuerpo o fragmento comprende:

(i) un anticuerpo de HC que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 2 o 3; y/o

5 (ii) un anticuerpo LC que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 5.

E246. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$, que comprende una LC que consta de la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5 y
10 una HC que consta de la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 2 o 3.

E247. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$, que comprende:

15 una región VL de anticuerpo que comprende CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 de la región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7; y
una región VH de anticuerpo que comprende la CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 de la región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6.

E248. El anticuerpo aislado de la modalidad E247, que comprende una región
20 constante de la cadena pesada del anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 181 o 184 y una región constante de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 83.

E249. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$, que
25 comprende:

a) una región VL de anticuerpo que comprende la primera, segunda y tercera CDR de la región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7;
una región VH de anticuerpo que comprende la primera, segunda y tercera CDR de la región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6;
30 una región constante de cadena ligera (CL) de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 83; y
una región constante de la cadena pesada (CH) del anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 181 o 184;

b) una región VL de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEC ID NO: 7; y una región VH de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos idéntica al menos en un 95% a la SEC ID NO: 6; o

5 c) una región LC de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEC ID NO: 5, y un anticuerpo de HC que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEC ID NO: 2 o 3.

10 E250. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$, que comprende un anticuerpo VH que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por el inserto depositado en la ATCC y que tiene el número de acceso PTA-124917, y un anticuerpo VL que comprende una secuencia de aminoácido codificada por el inserto depositado en la ATCC y que tiene el Número de Acceso PTA-124918.

15 E251. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$, en donde el anticuerpo o fragmento tiene al menos una de las siguientes propiedades:

20 a. una afinidad de unión, expresada como KD, por la integrina $\alpha\beta 8$ humana que es menor que la KD por el anticuerpo murino ADWA11, ej., menos de 536 pM aproximadamente;

b. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ humana que es menor o igual a aproximadamente 100 pM;

c. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de ratón que es menor que la KD para el anticuerpo murino ADWA11, ej., menos de aproximadamente 489 pM;

25 d. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de ratón que es menor de aproximadamente 100 pM;

e. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de mono *cynomolgus* que es menor que la KD para el anticuerpo murino ADWA11, ej., menos de aproximadamente 507 pM;

30 f. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de mono *cynomolgus* que es menor o igual a aproximadamente 100 pM;

g. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de rata que es aproximadamente 160 pM;

h. afinidad aproximadamente equivalente para al menos dos, tres o la totalidad de la integrina $\alpha\beta 8$ de humano, *cynomolgus*, ratón y rata, ej.,

con una KD que es menor que 100 pM aproximadamente, según se determina usando un ensayo de afinidad Biacore;

- i. una CI50 para inhibir la transactivación de TGF β que es de aproximadamente 100 pM a aproximadamente 300 pM;
- 5 j. una CE30 para células U251 de aproximadamente 100 pM a aproximadamente 400 pM;
- k. una EC50 para células C8-S de aproximadamente 110 pM a aproximadamente 180 pM; y
- 10 l. al menos un parámetro farmacocinético (PK) humano predicho seleccionado a partir de:
 - i. un aclaramiento del compartimento central (CL) de aproximadamente 0.12 ml/h/kg;
 - ii. un aclaramiento de distribución intercompartimental (CLF) de aproximadamente 0.51 ml/h/kg;
 - 15 iii. un volumen de distribución para el compartimento central (V1) de aproximadamente 36 ml/kg;
 - iv. un volumen de distribución para el compartimento periférico (V2) de aproximadamente 33 ml/kg;
 - v. una semivida terminal ($t_{1/2}$) de aproximadamente 15 a 17 días; y
 - 20 vi. sin unión detectable a receptores Fc γ humanos o C1q.

E252. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, que comprende una región Fc de IgG1 humana que comprende una o más sustituciones seleccionadas de las posiciones L234, L235 y G237 (ej., una o más de L234A, L235A y G237A), numeradas según la numeración Eu de Kabat.

E253. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el anticuerpo es un anticuerpo humanizado, un anticuerpo humano, un anticuerpo murino, un anticuerpo quimérico o un anticuerpo de camélido.

E254. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el isotipo de la cadena pesada del anticuerpo

se selecciona a partir de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 o cualquier variante de los mismos; y/o en donde la región constante de la cadena ligera se elige entre kappa o lambda.

5 E255. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores, en donde el isotipo de la cadena pesada del anticuerpo es IgG1 y/o en donde la región constante de la cadena ligera es una cadena ligera kappa.

10 E256. Un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que compite por la unión a la integrina $\alpha\beta 8$ con un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la modalidad E242.

15 E257. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades anteriores y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

20 E258. La composición farmacéutica de la modalidad E257, que comprende i) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una cadena pesada de anticuerpo codificada por la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 2 y una cadena ligera de anticuerpo codificada por la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5, ii) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una cadena pesada de anticuerpo codificada por la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 3 y una cadena ligera de anticuerpo codificada por la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5, o iii) ambas.

25 E259. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de cualquiera de las modalidades E239-E256.

30 E260. El ácido nucleico aislado de la modalidad E259, en donde el ácido nucleico aislado codifica la región VH, la región VL, o ambas, del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, y en donde dicho ácido nucleico comprende: la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 190, la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 186, o ambas.

E261. El ácido nucleico aislado de la modalidad E259, en donde el ácido nucleico aislado codifica la región constante de cadena pesada, la región constante de cadena ligera, o ambas, del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, y en donde el ácido nucleico comprende la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 192 o 193; la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 194; o ambas.

E262. El ácido nucleico aislado de la modalidad E259, en donde el ácido nucleico aislado codifica la HC, LC, o ambas, del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, y en donde dicho ácido nucleico comprende: la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 189 o 190; la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 185; o ambas.

E263. El ácido nucleico aislado de la modalidad E259, en donde el ácido nucleico aislado comprende la secuencia de ácido nucleico del inserto del plásmido depositado con la ATCC y que tiene el número de acceso PTA-124917, la secuencia de ácido nucleico del inserto del plásmido depositado con la ATCC y que tiene el Número de Acceso PTA-124918, o ambos.

E264. El ácido nucleico aislado de la modalidad E259, en donde el ácido nucleico aislado comprende una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos 80%, 85%, 87%, 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 189 o SEC ID NO: 191; una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos 80%, 85%, 87%, 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 185; o ambas.

E265. Un vector que comprende el ácido nucleico de cualquiera de las modalidades E259-E264.

E266. Una célula huésped que comprende el ácido nucleico de cualquiera de las modalidades E259-E264 o el vector de la modalidad E265.

E267. La célula huésped de la modalidad E265, en donde la célula huésped es una célula de mamífero seleccionada del grupo que consiste en una célula CHO, una célula COS, una célula HEK-293, una célula NS0, una célula PER.C6® y una célula Sp2.0.

E268. Un método para preparar un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende cultivar la célula huésped de la modalidad 266, en condiciones en donde el anticuerpo o fragmento es expresado por la célula huésped y
5 que aísla el anticuerpo o fragmento.

E269. Un método para reducir la actividad de la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ en un sujeto que lo necesita, el método que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, de
10 cualquiera de las modalidades E239-E256, o la composición farmacéutica de las modalidades E257 o E258.

E270. Un método para tratar el cáncer, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo o fragmento de unión al
15 antígeno del mismo de cualquiera de las modalidades E239-E256, o la composición farmacéutica de las modalidades E257 o E258.

E271. El método de la modalidad E270, la administración adicional de un agente citotóxico, un agente citostático, un agente quimioterapéutico, un tratamiento hormonal,
20 una vacuna, una inmunoterapia, cirugía, radiación, criocirugía, termoterapia o una combinación de los mismos.

E272. El método de la modalidad E271, en donde la administración adicional es simultánea, secuencial o separada de la administración de la cantidad terapéuticamente
25 eficaz del anticuerpo, o su fragmento de unión a antígeno, o la combinación farmacéutica.

E273. El método de la modalidad E271, en donde la inmunoterapia comprende un modulador de una molécula de punto de control inmune seleccionada del grupo que
30 consiste en un anticuerpo anti-PD1, un anticuerpo anti-PD-L1, un anticuerpo anti-PD-L2, un anti-CTLA- 4, una proteína de fusión CTLA-4 soluble y una combinación de los mismos, y en donde el anticuerpo anti-PD-L1 no es avelumab.

- 5 E274. El método de cualquiera de las modalidades E270-E273, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, carcinoma de células renales con células claras o de células papilares, cáncer de ovario, cáncer de trompas de Falopio, cáncer primario de peritoneo, cáncer gástrico, cáncer de la unión gastroesofágica, cáncer de esófago, cáncer de pulmón de células escamosas, adenocarcinoma ductal pancreático, colangiocarcinoma, cáncer uterino, melanoma, carcinoma urotelial y combinaciones de los mismos.
- 10 E275. Un método para detectar la integrina $\alpha v \beta 8$ en una muestra, tejido o célula usando el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de las modalidades E239-E256, que comprende poner en contacto la muestra, tejido o célula con el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, y detectar el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.
- 15 E276. Un kit que comprende el anticuerpo o fragmento de cualquiera de las modalidades E239-E256, o la composición farmacéutica de las modalidades E257 o E258 y que comprende opcionalmente el modulador de la modalidad E273.
- 20 E277. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo según cualquiera de las modalidades E239-E256, o la composición farmacéutica de las modalidades E257 o E258 para su uso en la reducción de la actividad de la integrina $\alpha v \beta 8$ en un sujeto que lo necesite, para el tratamiento del cáncer.
- 25 E278. El anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades E239-E256, o la composición farmacéutica de las modalidades E257 o E258 para su uso en el tratamiento del cáncer, opcionalmente donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, o la composición farmacéutica es para la administración simultánea, secuencial o por separado en combinación con inmunoterapia en donde la combinación proporciona opcionalmente un efecto
- 30 terapéutico sinérgico.
- E279. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, o la composición farmacéutica para su uso según la modalidad E278, en donde el cáncer se selecciona

del grupo que consiste en carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, carcinoma de células renales con células de tipo claras o células papilares, cáncer de ovario, cáncer de trompas de Falopio, cáncer peritoneal primario, cáncer gástrico, cáncer de unión gastroesofágica, cáncer de esófago, cáncer de pulmón de células escamosas, adenocarcinoma ductal pancreático, colangiocarcinoma, cáncer de útero, melanoma, carcinoma urotelial y combinaciones de los mismos, en donde opcionalmente el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo o la composición o combinación farmacéutica se utilizan junto con la administración de la inmunoterapia o radioterapia.

10

E280. Uso de un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades E239-E256, o la composición farmacéutica de las modalidades E257 o E258 para el tratamiento del cáncer.

15 E281. Uso de un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las modalidades E239-E256 en la fabricación de un medicamento para tratar el cáncer.

20 E282. Un método para tratar el cáncer, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de (i) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la integrina $\alpha v \beta 8$ y (ii) un modulador de una molécula de punto de control inmune anti-PD1, anti-PD-L1 o anti-PD-L2.

25 E283. El método de la modalidad E282, en donde el cáncer es un carcinoma de células escamosas.

E284. El método de la modalidad E282, en donde el cáncer es cáncer de mama o de colon.

30

E285. El método de cualquiera de las modalidades E282-E284, en donde el modulador se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo anti-PD1, un anticuerpo anti-PD-L1 y un anticuerpo anti-PD-L2.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

El resumen anterior, así como la siguiente descripción detallada de la invención, se entenderán mejor cuando se lean junto con los dibujos adjuntos. Con el fin de ilustrar la invención, se muestran las siguientes modalidades de los dibujos, sin embargo, debe entenderse que la invención no se limita a las disposiciones e instrumentos precisos mostrados.

La FIG. 1A muestra una alineación de secuencia que compara las secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada del anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA11 (denominado "mADWA11", "ADWA11" o "hibridoma de ratón ADWA11"; SEC ID NO: 20), el anticuerpo ADWA11 VH05-2/VK01 (2.4) humanizado ("huADWA11-2.4", "ADWA11 2.4" o "ADWA11-2.4 humanizado"; SEC ID NO: 6) y las secuencias de línea germinal IGHV3-07 ("IMGT" o "DP-54"; SEC ID NO: 195). Los residuos de aminoácidos subrayados son las secuencias de CDR según Kabat.

La FIG. 1B muestra una alineación de secuencias que compara las secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo de ADWA11 de hibridoma de ratón (denominado "mADWA11", "AWDA11" o "hibridoma de ratón ADWA11"; SEC ID NO: 21), el anticuerpo ADWA11 VH05-2/VK01 (2.4) humanizado ("huADWA11-2.4", "ADWA11 2.4" o "ADWA11 2.4 humanizado"; SEC ID NO: 7), y las secuencias de línea germinal IGKV1-39 ("IMGT" o "DPK-9"; SEC ID NO: 196). Los residuos de aminoácidos subrayados son las secuencias de CDR según Kabat.

La FIG. 2 muestra un gráfico representativo que compara la especificidad de unión de los anticuerpos de hibridoma de ratón ADWA2 y ADWA11 para las integrinas $\alpha\beta3$ humanas ("AVB3") y $\alpha\beta6$ ("AVB6"), determinada por ELISA. ADWA2 y ADWA11 no unieron las integrinas $\alpha\beta3$ ("AVB3") y $\alpha\beta6$ ("AVB6"), mientras que el anticuerpo de unión a αV de control ("mAb AlphaV") se unió tanto a $\alpha\beta3$ como a $\alpha\beta6$.

La FIG. 3A muestra un gráfico representativo que muestra que el anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA11 se une a $\alpha\beta8$ humano según se determina mediante ELISA.

La FIG. 3B muestra un gráfico representativo que muestra que el anticuerpo ADWA11 VH05/VK01(2.4) humanizado se une a $\alpha\beta8$ humano según se determina mediante ELISA.

La FIG. 4A muestra un gráfico representativo que muestra la afinidad de unión, determinada por ELISA, de Fabs ADWA11 VH05/VK01 que tienen una sustitución de aminoácidos K30A, N55Q, N57Q, D61E, P62A o K63A en la región variable de cadena

pesada, a $\alpha\beta 8$ humano, en comparación con la afinidad de unión del anticuerpo ADWA11_VH05/VK01 humanizado parental (ADWA VH_1.5 y ADWA VL_1.1) a $\alpha\beta 8$ humano. Los Fabs que tienen una sustitución de aminoácidos K30A, N55Q, N57Q, D61E, P62A o K63A en la región variable de la cadena pesada retienen la afinidad de unión por $\alpha\beta 8$ humano.

La FIG. 4B muestra un gráfico representativo que muestra la afinidad de unión, determinada por ELISA, de los Fabs ADWA11 VH05-2/VK01 que tienen una sustitución de aminoácidos en la región variable de la cadena pesada (ej., F64V) o en la región variable de cadena ligera (ej., L30S, Y55A, A60Q, M94Q, L97Y, F101L, F101W o Q105G), a $\alpha\beta 8$ humano, en comparación con la afinidad de unión del anticuerpo ADWA11 VH05-2/VK01 parental a $\alpha\beta 8$ humano. Los Fab que tienen una sustitución de aminoácidos Y55A, A60Q, F101L o F101W en la región variable de la cadena ligera mostraron una afinidad de unión reducida a $\alpha\beta 8$ humano, en comparación con el anticuerpo ADWA11 VH05-2/VK01 humanizado. Los otros Fab ensayados retienen la afinidad de unión por $\alpha\beta 8$ humano.

La FIG. 4C muestra gráficos representativos que muestran la afinidad de unión, determinada por ELISA, de Fabs ADWA11 VH05-2/VK01 conocidos como VH05-2/VK01 (2.1) (ADWA11 2.1), VH05-2/VK01 (2.2) (ADWA 2.2), VH05-2/VK01 (2.3) (ADWA 2.3), VH05-2/VK01 (2.4) (ADWA 2.4), VH05-2 (F64V)/VK01 (2.1), VH05-2 (F64V)/VK01 (2.3) y VH05-2 (F64V)/VK01 (2.4), que tiene una combinación de sustituciones de aminoácidos como se muestra en la **Tabla 5**, para $\alpha\beta 8$ humano, y en comparación con el anticuerpo parental (VH05-2_VK01 parental). Cada uno de los Fab ensayados retiene la afinidad de unión por $\alpha\beta 8$ humano.

La FIG. 5 muestra un gráfico representativo que compara la especificidad de unión del hibridoma de ratón ADWA11 ("MsADWA11" o "mADWA11") y ADWA11 VH05-1/VK01 humanizado ("ADWA11 5-1_1") y ADWA11 VH05-2/VK01 ("ADWA11 5 - 2_1") para las integrinas $\alpha\beta 3$ (avb3) y $\alpha\beta 6$ (avb6) humanas, según lo determinado por Biacore. Los anticuerpos ADWA11 no se unieron a las integrinas $\alpha\beta 3$ (avb3) y $\alpha\beta 6$ (avb6), mientras que el anticuerpo de unión a αV de control ("anti-av") se unió tanto a $\alpha\beta 3$ como a $\alpha\beta 6$.

La FIG. 6A muestra una traza de unión de Biacore representativa para el hibridoma ADWA11 ("Ms ADWA11") Fab a $\alpha\beta 8$ humana.

La FIG. 6B muestra una traza de unión de Biacore representativa para el Fab ADWA11_5-2 2.4 humanizado, también conocido como ADWA11 VH05-2/VK01 (2.4) o Fab "ADWA11 2.4" para $\alpha\beta 8$ humano.

La FIG. 6C muestra una tabla representativa que muestra que el Fab ADWA11 humanizado, denominado en el presente documento ADWA11 5-2 2.4 (también conocido como ADWA11 2.4 y ADWA11 VH05-2/VK01 (2.4)), retiene la afinidad por $\alpha\beta 8$ humano y reactividad entre especies según lo evaluado por Biacore, en comparación con el anticuerpo de ratón parental Fab ("MsADWA11"). ADWA11 5-2 2.4 demostró una afinidad equivalente por la $\alpha\beta 8$ de humano, *cynomolgus*, ratón y rata con una KD de <200 pM. El anticuerpo de ratón parental demostró una afinidad equivalente por $\alpha\beta 8$ de humano, *cynomolgus* y ratón con una KD de 489-536 pM.

La FIG. 7A muestra un gráfico representativo que compara los datos de unión de células U251 para Fabs ADWA11 VH05-2/VK01 (Parental) ("ADWA11") que tienen una sustitución de un aminoácido individual en la región variable de la cadena pesada (ej., F64V) o en la región variable de la cadena ligera (ej., L30S, M94Q, L97Y, F101L o Q105G). Los Fab que tenían una sustitución de aminoácidos F101L en la región variable de la cadena ligera mostraron una unión reducida a las células U251 ($\alpha\beta 8$ de humano), en comparación con el anticuerpo parental. Los otros Fab ensayados retuvieron la unión a las células U251 ($\alpha\beta 8$ de humano).

La FIG. 7B muestra un gráfico representativo que compara los datos de unión de células U251 para Fabs ADWA11 VH05-2/VK01 (Parental) ("ADWA11") que tienen una sustitución de un aminoácido individual en la región variable de la cadena ligera (ej., M56A o N58S). Los Fab M56A y N58S retienen la unión a las células U251 ($\alpha\beta 8$ humano).

La FIG. 7C muestra un gráfico representativo que muestra los datos de unión de células U251 para Fabs ADWA11 VH05-2/VK01 ("ADWA11") que tienen una combinación de sustituciones de aminoácidos conocidas como 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.1 (F64V), 2.3 (F64V) y 2.4 (F64V) según la Tabla 5, en comparación con el anticuerpo parental. Cada uno de los Fab ensayados retiene la unión a células U251 fijadas.

La FIG. 8 muestra un gráfico representativo que compara las afinidades de unión de los anticuerpos ADWA11 mIgG_4mut y ADWA11 VH05/VK01 a células U251.

La FIG. 9A muestra gráficos representativos que muestran la unión de ADWA11 VH05-2/VK01 con una combinación de sustituciones de aminoácidos denominadas ADWA11_VH05-2/VK01 (2.1) y ADWA11_VH05-2/VK01 (2.4) a células U251

(glioblastoma humano) o C8-S (astrocitos de ratón). Los anticuerpos ADWA11 VH05-2/VK01 (2.1) y ADWA11 VH05-2/VK01 (2.4) retienen la unión a células U251 (avb8 humano) y C8-S (avb8 de ratón).

La FIG. 9B muestra gráficos representativos que describen la unión de anticuerpos específicos de integrina, tales como ADWA11 VH05-2/VK01(2.4) a células HEK que expresan $\alpha v \beta 3$, $\alpha v \beta 5$, $\alpha v \beta 6$, y $\alpha v \beta 8$. Los resultados muestran una unión saturable de ADWA11 VH05-2/VK01 (2.4) a las células HEK que expresan $\alpha v \beta 8$ y ninguna unión a las células que expresan $\alpha v \beta 3$, $\alpha v \beta 5$, $\alpha v \beta 6$. Los resultados demuestran la unión específica de ADWA11 VH05-2/VK01 (2.4) a $\alpha v \beta 8$ humana.

La FIG. 10A muestra un gráfico representativo que compara el efecto del hibridoma de ratón ADWA11 ("mFab") y los Fabs ADWA11 humanizados: ADWA 11 VH01/VK01, ADWA 11 VH02/VK01, ADWA 11 VH02/VK02, ADWA 11 VH05/VK02 y ADWA11 VH05/VK01 en trans-activación TGF β por células U251. Los Fab VH01/VK01, VH02/VK01 y VH02/VK02 mostraron una actividad reducida, mientras que VH05/VK01 retuvo la actividad, y VH05/VK02 demostró una actividad mejorada para bloquear la activación de TGF β en el ensayo de transactivación U251 en comparación con el Fab de hibridoma de ratón ADWA11 ("mFab").

La FIG. 10B muestra un gráfico representativo que compara el efecto de los Fabs ADWA11 VH05-2/VK01 indicados que tienen una sustitución de aminoácidos en la región variable de la cadena pesada (ej., F64V) o en la región variable de la cadena ligera (ej., L30S, M94Q, L97Y, F101L, F101W o Q105G) sobre la transactivación de TGF β en células U251. Los Fab que tienen una sustitución de un aminoácido individual F101L o F101W en la región variable de cadena ligera mostraron un efecto reducido sobre la transactivación de TGF β , en comparación con el Fab ADWA11 VH05-2/VK01 parental humanizado. Los otros Fab ensayados retuvieron la actividad en el ensayo de transactivación de TGF β .

La FIG. 10C muestra un gráfico representativo que compara el efecto de los Fabs ADWA11 VH05-2/VK01 con sustituciones de aminoácidos, incluida la combinación de sustituciones de aminoácidos conocida como 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.1 (F64V), 2.3 (F64V) y 2.4 (F64V) de acuerdo con la Tabla 5. Los Fab VH02-2/VK01 (2.3) y VH05-2 (F64V)/VK01 (2.3) mostraron un efecto reducido sobre la transactivación de TGF β , en comparación con el Fab parental ADWA11 VH05-2/VK01. Los otros Fab ensayados retuvieron la actividad en el ensayo de transactivación de TGF β .

La FIG. 10D muestra un gráfico representativo que compara el efecto de los Fabs ADWA11 VH05-2/VK01 (parentales) que tienen la sustitución de aminoácidos indicada en la región variable de cadena pesada (ej., F64V), o la región variable de cadena ligera (ej., L30S, M94Q, L97Y, Q105G, M56A o N58S). Los Fab ensayados retienen la actividad en el ensayo de transactivación de TGF β en comparación con el Fab ADWA11 VH05-2/VK01 parental.

La FIG. 10E muestra un gráfico representativo que muestra el efecto de la IgG humanizada ADWA11 VH05/VK01, VH05/VK01-D61E (VH05-1/VK01) y VH05/VK01-N55Q-D61E (VH05-2/VK01) sobre la transactivación de TGF β por células U251. Los anticuerpos ensayados retienen la actividad en el ensayo de transactivación de TGF β .

La FIG. 10F representa gráficos representativos que muestran el efecto de ADWA11_VH05-2_VK01 (2.4) sobre la transactivación de TGF β por células U251 (panel izquierdo) y C8-S (panel derecho), en comparación con el anticuerpo de control de isotipo. Experimentos adicionales demostraron que la CI50 para ADWA11 VH05-2/VK01 (2.4) en el ensayo de transactivación de TGF β con células U251 era de 199 ± 93.6 pM (promedio $\pm$ desviación estándar).

La FIG. 11 muestra un gráfico representativo que muestra el porcentaje de respondedores (antigenicidad) para diferentes péptidos CDR ADWA11 VH05-2VK01 en comparación con los péptidos de control positivo expuestos en la Tabla 1. Se utilizó la puntuación de antigenicidad de péptidos para seleccionar posibles secuencias de CDR con riesgo de inmunogenicidad reducido.

La FIG. 12A muestra gráficos representativos que muestran la eficacia de las combinaciones de tratamiento de anti- $\alpha\text{v}\beta 8$ (ADWA11), anticuerpo anti-PD1 ("PD-1", RMP1-14), isotipo mIgG1_4mut (2B8) e isotipo IgG2a de rata (2A3) en el modelo tumoral de cáncer de mama EMT6. El crecimiento tumoral se midió utilizando calibradores digitales tres veces por semana y se informó como volumen tumoral (largo x ancho x ancho x 0.5). Se representó gráficamente el volumen tumoral medio $\pm$ SEM en cada grupo de tratamiento hasta que quedaron menos de 8/10 de los ratones en cada grupo. La supervivencia se definió como el tiempo para alcanzar los 1000 mm³. La combinación de anti-PD1 y ADWA11 inhibió el crecimiento tumoral y mejoró la supervivencia global en mayor medida que las otras combinaciones probadas.

La FIG. 12B muestra gráficos representativos que muestran la eficacia de un anticuerpo anti- $\alpha\text{v}\beta 8$ (ADWA11) a 1, 3, 10 y 20 mg/kg como monoterapia y un control de isotipo (isotipo mIgG1_4mut (2B8)) en el modelo de cáncer de mama EMT6 en el

panel superior. También se muestra la combinación de anticuerpo anti- $\alpha\beta 8$ ADWA11 a 1, 3, 10 y 20 mg/kg con anticuerpo anti-PD1 (RMP1-14, 10 mg/kg) y un isotipo IgG2a de rata (2A3) en el modelo tumoral de cáncer de mama EMT6. Los ratones se trataron con anticuerpos los días 0, 4 y 8 del estudio y se midió el crecimiento tumoral usando
5 calibradores digitales tres veces por semana y se reportó como volumen tumoral (largo x ancho x ancho x 0.5).

La FIG. 13 muestra gráficos representativos que muestran la eficacia de las combinaciones de tratamiento anti- $\alpha\beta 8$ (ADWA11), anti-41BB (MAB9371), anti-CTL4 (9D9), isotipo mIgG1_4mut (2B8) e isotipo IgG2a de rata (2A3) en un modelo de tumor
10 EMT6. El crecimiento del tumor se midió usando calibradores digitales tres veces por semana y se informó como volumen del tumor (largo x ancho x ancho x 0.5), el volumen medio del tumor +/- SEM en cada grupo de tratamiento se trazó hasta que quedaron menos de 8/10 de los ratones en cada grupo y la supervivencia se definió como el tiempo para llegar a 1000 mm³. La combinación de tratamiento anti-4-1BB y ADWA11 o
15 anti-CLTA4 y ADWA11 inhibió el crecimiento tumoral y mejoró la supervivencia global en mayor medida que las otras combinaciones ensayadas.

La FIG. 14A muestra gráficos representativos que muestran que la combinación de anticuerpo anti- $\alpha\beta 8$ y radioterapia (ADWA11 + grupo de radiación 5Gy) inhibió el crecimiento tumoral y mejoró la supervivencia general en mayor medida que la
20 radioterapia con un control de isotipo (mIgG4mut (2B8) + grupo de radiación 5Gy) en el modelo tumoral CT26. El crecimiento tumoral se midió usando calibradores digitales 3 veces por semana y se informó como volumen del tumor (largo x ancho x ancho x 0.5), se graficó el volumen medio tumoral +/- SEM en cada grupo de tratamiento y la supervivencia se definió como el tiempo para alcanzar 1000 mm³. * p < 0.05 vs Sin
25 tratamiento, ** P < 0.05 vs radiación + 2B8.

La FIG. 14B gráfico superior ilustra la densidad de las células que expresan CD45, CD8 y granzima B en tejido tumoral CT26 recolectado el día 12 de ratones tratados el día 0, el día 4 y el día 8 con 10 mg/kg de control de isotipo (control) o anticuerpo ADWA11 (Anti-ITG $\alpha\beta 8$), n = 6; p = valor-P. El gráfico inferior muestra la
30 expresión génica de CD45, CD8, granzimaB e IFN γ en el tejido tumoral recolectado 12 días después de la primera dosis de 10 mg/kg de control de isotipo (isotipo), anticuerpo ADWA11 (Anti-ITG $\alpha\beta 8$), isotipo en combinación con 5 Gy de radiación dirigida al tumor, o el anticuerpo ADWA11 en combinación con 5Gy de radiación dirigida al tumor. Los tratamientos con anticuerpos se administraron por vía intravenosa el día 1, el día 4

y el día 8 del estudio y la radioterapia se administró el día 5 del estudio. Se incluyeron cinco ratones en cada grupo de tratamiento; se graficaron la media y el error estándar de la media.

La FIG. 15 muestra gráficos representativos que muestran el análisis IHC de la densidad de CD45 (linfocitos totales y células mieloides), CD3 (células T totales), células T CD4, células T CD8 y granzima B (células CD8 y NK activadas) en el modelo tumoral EMT6 . El tratamiento con ADWA11 (2.4) (también denominado ADWA11VH05-2 / VK01 (2.4) en el presente documento) aumentó la densidad de todos los tipos de células analizados. N = 10 por grupo, valor de p para la prueba t de dos colas marcada en el gráfico.

La FIG. 16A muestra un diagrama que muestra un régimen de tratamiento para el modelo tumoral CCK168. Se proporciona la línea de tiempo para la implantación de células tumorales y la inyección de anticuerpos intraperitoneal (i.p.) para cuatro grupos de tratamiento.

La FIG. 16B muestra curvas de supervivencia representativas de Kaplan-Meier usando un volumen tumoral de 2000 mm³ como punto de corte para la supervivencia en el modelo tumoral CCK168. n = 10 en cada grupo. ** p <0.01 según la prueba de Mantel-Cox de rango logarítmico.

La FIG. 16C representa gráficos representativos que muestran curvas de crecimiento individuales de los tumores mostrados en la FIG. 16B. Los ratones se sacrificaron antes del punto final de 45 días cuando los tumores alcanzaron $\geq 2000 \text{ mm}^3$ o si se observó una ulceración tumoral extensa. La combinación de un anticuerpo anti-PD1 y el tratamiento con ADWA11 inhibió sinérgicamente el crecimiento tumoral y mejoró la supervivencia general en mayor medida que un anticuerpo anti-PD1, ADWA11 o un tratamiento de control de isotipos solo o los efectos individuales simplemente sumados. Los datos mostrados son representativos de 3 réplicas biológicas independientes.

La FIG. 17A describe la estrategia de activación para la identificación de monocitos, macrófagos y células dendríticas que se infiltran en el tumor. Las células individuales vivas se vaciaron primero con una puerta de descarga que incluía Ly6G, SiglecF, CD90 y B220 para eliminar neutrófilos, eosinófilos, linfocitos y células B. Luego, las células que se tiñeron negativamente se analizaron mediante citometría de flujo y se activaron. Los macrófagos se identificaron como CD45+CD11b+CD64^{high}F4/80^{high} y las células dendríticas se identificaron como

CD45+CD11b+F4/80-CD64-MHCII^{high}CD11c^{high}. De la población de macrófagos, los perfiles compatibles con los macrófagos inmunoestimuladores se identificaron como Ly6C^{high}CD206^{low} y los macrófagos inmunosupresores se identificaron como Ly6C^{low}CD206^{high}. Canal de descarga Ly6G+SiglecF+ CD90.2+B220+.

5 **La FIG. 17B** muestra un gráfico representativo que muestra la tinción de la superficie celular para la integrina $\alpha\beta 8$ analizada como parte de un panel de citometría de flujo multicolor en los tumores desagregados descritos en la FIG. 17A. Gráficos de citometría de flujo representativos que muestran fluorescencia menos una tinción de control (FMO) y tinción de anticuerpos ADWA11 en el modelo tumoral CCK168. N = 4
10 tumores.

La FIG. 18A representa gráficos representativos que muestran la tinción de ADWA11 en células negativas para CD45 aisladas de CCK168. Se analizaron células individuales vivas para determinar la presencia de CD45. El 4% de las células negativas para CD45 en el modelo tumoral CCK168 fueron positivas para la expresión
15 de $\alpha\beta 8$ usando el anticuerpo ADWA11.

La FIG. 18B representa la expresión de $\alpha\beta 8$ en las líneas celulares CCK168, CT26 y EMT6. Se analizaron células individuales vivas para la expresión de $\alpha\beta 8$ mediante citometría de flujo utilizando anticuerpos de tinción de isotipo y anti- $\alpha\beta 8$ (ALDWA11). Las líneas celulares CCK168 y EMT6 tienen expresión detectable de
20 $\alpha\beta 8$, mientras que la línea celular CT26 no la tiene.

La FIG. 19A representa gráficos representativos que muestran el número total de células T CD8+ intratumorales de ratones con tumores CCK168 tratados con anticuerpos de control solos, anti-PD1, ADWA11 o anti-PD1 y ADWA11 combinados. Se muestran gráficos de citometría de flujo representativos para la expresión de CD4 y
25 CD8 de todas las células CD45+ junto con la relación entre el número de células CD8+ y las células CD45+ para cada ratón de cada grupo.

La FIG. 19B muestra micrografías de inmunofluorescencia representativas de secciones tumorales CCK168 recolectadas de ratones en cada grupo de tratamiento, teñidas para anti-CD8 y DAPI. Barra de escala, 50 μm .

30 **La FIG. 19C** muestra gráficos de citometría de flujo representativos que muestran la tinción intracelular para granzima B en células activadas para la expresión de CD8, junto con el porcentaje de células CD8+ que expresan granzima B detectable en cada ratón de cada grupo.

La FIG. 19D muestra gráficos de citometría de flujo representativos que muestran macrófagos inmunoestimuladores (Ly6c^{high}, CD206^{low}) y macrófagos inmunosupresores (CD206^{high}, Ly6c^{low}) para células activadas como CD45+ Ly6G-CD11b + CD64^{high}F4/80^{high}. De la población de macrófagos, los macrófagos inmunoestimuladores se identificaron como Ly6C^{high}CD206^{low} y los macrófagos inmunosupresores se identificaron como Ly6C^{low}CD206^{high}, junto con el porcentaje de macrófagos inmunoestimuladores para cada ratón. Los datos en los gráficos son la media + SEM, n = 10 por grupo. * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001 por ANOVA de una vía.

La FIG. 20 representa gráficos representativos que muestran la tinción ADWA11 en células T CD4+ y CD8+ en el microambiente tumoral CCK168. Se activaron las células CD45+ individuales vivas en CD4 y CD8 y se tiñeron con ADWA11. Se muestran gráficos representativos para ratones de cada uno de los 4 grupos de tratamiento.

La FIG. 21A muestra gráficos representativos que muestran la inmunodisminución de células T CD8+. Las micrografías muestran inmunotinción con contrateñido anti-CD8 con DAPI en tumores CCK168 aislados después de la terapia combinatoria anti-PD-1/ADWA11 con o sin tratamiento previo con anticuerpo reductor anti-CD8 o anticuerpo de control de isotipos.

La FIG. 21B muestra gráficos representativos que muestran curvas de crecimiento tumoral promedio para tumores CCK168 pretratados con anticuerpo reductor anti-CD8 o anticuerpo de control de isotipo 24 horas antes de la terapia de combinación ADWA11/anti-PD-1.

La FIG. 21C muestra gráficos representativos que muestran la supervivencia de ratones que albergan tumores CCK168 después de la terapia de combinación ADWA11/anti-PD-1, pretratados un día antes con anticuerpo reductor anti-CD8 o de control de isotipo. Los datos se informaron como porcentaje de supervivencia, n = 10 en cada grupo. ** p <0.01 según la prueba de Mantel-Cox de rango logarítmico.

La FIG. 22A muestra gráficos representativos que muestran tumores CCK168 recolectados de ratones tratados con ADWA-11 o anticuerpo de control y teñidos con anticuerpos contra CD8, F4/80 para detectar macrófagos y fosfo-SMAD3 para detectar la señalización de TGFβ (pS3). Las imágenes fusionadas de baja potencia y las imágenes que muestran solo pSMAD3 se muestran a la izquierda y las imágenes

fusionadas ampliadas y las imágenes para cada anticuerpo individual de las áreas encuadradas se muestran a la derecha.

La FIG. 22B muestra gráficos representativos que describen la cuantificación de la densidad de tinción de pSmad3 (pS3) en ratones de control y tratados con ADWA11.

- 5 El tratamiento con ADWA11 disminuyó la densidad de pSmad3 en los tumores CCK168.

La FIG. 23A muestra gráficos representativos que exponen datos extraídos de El Atlas del Genoma del Cáncer (TCGA) para la expresión de ARNm de integrina- β 8 en 30 cánceres humanos diferentes. Cada punto representa una muestra de tumor individual.

- 10 Los resultados que se muestran en esta figura se basan en datos generados por la Red de Investigación del TCGA.

La FIG. 23B muestra gráficos representativos que muestran datos de citometría de flujo de células desagregadas de carcinoma ovárico no identificado reciente y carcinomas de células renales controlados por monocitos maduros (monocitos CD16+), macrófagos asociados a tumores (macrófagos CD14+), dos poblaciones de células dendríticas derivadas de monocitos (BCDA1+ moDC y BCDA3+ moDC) o eosinófilos y teñidos para la expresión de $\alpha\beta$ 8. También se analizaron tejidos de amígdalas normales como control. La estrategia de activación se muestra en la FIG. 23C; n = 2 para cada tipo de tumor.

- 20 **La FIG. 23C** son gráficos representativos que muestran la estrategia de activación para muestras de biopsia de tumores humanos. Se activaron células CD45+ individuales vivas para SSC-A (hi) para eliminar los granulocitos. Se activó SSC-A (lo) para HLA-DR+ CD3- y se tiñó con CD14 y CD16. CD14+CD16+ se denominaron monocitos CD16+. Las células CD16 se tiñeron adicionalmente para CD11c. Las
25 células CD14+CD11c+ se tiñeron adicionalmente con CD1c y CD141. CD1c+CD141- se denominaron CD1c + MoDC. CD141 + CD1c- se denominaron CD141 + MoDC. Las células CD1c-CD141- se tiñeron adicionalmente con CD64 y la población CD64 + se denominó CD14 + TAM.

- La FIG. 24A** muestra un gráfico representativo que muestra los resultados de un
30 bioensayo de cocultivo de células TMLC realizado con concentraciones de ADWA11 que varían de 0.01 a 10 mg/ml. La actividad de TGF β se informa como unidades de luciferasa relativas con base en la actividad reportera de luciferasa de PAI-1. n = 3 por dosis de ADWA11, repetida 3 veces.

La FIG. 24B muestra un gráfico representativo que muestra los resultados de un ensayo de adhesión celular realizado en placas recubiertas con el péptido asociado a la latencia (LAP) de TGF β 1 en presencia de ADWA-11 en concentraciones de 0.001 a 10 mg/ml. Las células adherentes se tiñeron con violeta cristal y la adhesión se expresó como absorbancia a 595 nm. n = 3 por dosis de ADWA11, repetida 3 veces.

La FIG. 24C representa gráficos representativos que muestran que se usaron anticuerpos contra la integrina $\alpha\beta$ 3, $\alpha\beta$ 5, $\alpha\beta$ 6 y $\alpha\beta$ 8 para la citometría de flujo de células de carcinoma de colon de tipo silvestre, SW-480, que no expresan ninguna de estas integrinas o células SW-480 transfectadas para expresar β 3 (SW-itgb3), β 6 (SW-itgb6) o β 8 (SW-itgb8). Se muestran gráficos de citometría de flujo representativos para cada anticuerpo y tipo de célula analizados.

La FIG. 25A muestra un gráfico representativo que muestra el modelo farmacocinético no lineal de dos compartimentos ajustado a una dosificación i.v. de 0.1, 0.3 y 3 mg/kg de ADWA11 (2.4) en ratones TG32. Círculos: datos observados. Líneas: ajuste del modelo.

La FIG. 25B muestra un gráfico representativo que muestra el modelo farmacocinético de dos compartimentos ajustado a una dosificación i.v. de 3 mg/kg de ADWA11 2.4 en ratones TG32. Círculos: datos observados. Líneas: ajuste del modelo.

La FIG. 26 muestra gráficos representativos que describen la farmacocinética de dos compartimentos de ADWA11 2.4 en monos *cynomolgus* después de una administración individual en bolo IV a 4, 40 y 100 mg/kg, respectivamente. Círculos: datos observados. Líneas: ajuste del modelo.

Las FIGs. 27A-27B muestran gráficos representativos que ilustran la farmacocinética de ADWA11 2.4 humana predicha seguido de 12 mg/kg Q28D y 7 mg/kg Q14D. CP es la concentración plasmática prevista; CAVG es el C_{avg} o concentración plasmática promedio; Rodent NOAEL es el nivel sin efectos adversos observable de C_{ave} en roedores; y NHP NOAEL es el nivel sin efectos adversos observables de C_{ave} en primates no humanos.

La FIG. 28 representa gráficos representativos que muestran curvas de supervivencia de Kaplan-Meier, usando un volumen tumoral de 2000 mm³ como punto de corte para la supervivencia para el modelo de tumor CCK168. Los grupos de tratamiento fueron el control de isotipo, anticuerpo anti-PD1, ADWA11_4mut y una combinación de anticuerpo anti-PD1 y ADWA11_4mut. Una combinación de anticuerpo anti-PD1 y tratamiento con ADWA11_4mut mejoró sinérgicamente la supervivencia

global en mayor medida que el anticuerpo anti-PD1, ADWA11_4mut o el tratamiento de control de isotipos solo o los efectos aditivos esperados de los tratamientos de combinación.

La FIG. 29A muestra gráficos que representan curvas de supervivencia representativas y **la FIG. 29B** muestra curvas de crecimiento tumorales individuales representativas en ratones implantados con células CT26 subcutáneas y tratados con anticuerpos de control de isotipos, anti-PD1, ADWA11_4mut, o una combinación de anti-PD1 y ADWA11_4mut, más una dosis de radiación de 5 Gy el día 5. Un grupo de ratones tratados con anticuerpos de control de isotipos no recibió radioterapia. Los datos se informaron como porcentaje de supervivencia, n = 10 en cada grupo. *** p <0.001, **** p <0.0001 mediante la prueba de Mantel-Cox de rango logarítmico.

La FIG. 29C muestra gráficos que representan una nueva exposición tumoral representativa en ratones curados con CT26 que sobrevivieron 50 días después del inicio del tratamiento. Se implantaron células CT26 parentales en el flanco contralateral al del sitio de implantación tumoral original de los ratones curados con CT-26, 51 días después de iniciar la inmunoterapia en combinación con la radioterapia. Los ratones de control no recibieron radiación y no fueron expuestos previamente a células tumorales. Se hizo seguimiento a los ratones expuestos nuevamente durante 30 días. Control, n = 10; RT más anti-PD1, n = 3; RT más ADWA11_mut, n = 5; RT más ADWA11_mut y anti-PD1, n = 7.

La FIG. 30A muestra gráficos que representan curvas de supervivencia representativas y **la FIG. 30B** muestra gráficos que representan curvas de crecimiento individuales representativas en ratones implantados ortotópicamente con células EMT6 seguido del tratamiento con anticuerpo de control de isotipo, ADWA11_4mut, 4-1BB, anti-CTLA4, anti-PD-1, o una combinación de ADWA-11_4mut y 4-1BB, anti -CTLA4 o anti-PD-1. Los datos se informaron como porcentaje de supervivencia, n = 10 en cada grupo. **** p <0.0001 según la prueba de Mantel-Cox de rango logarítmico

La FIG. 30C muestra gráficos que representan curvas de supervivencia representativas y **la FIG. 30D** muestra gráficos que representan curvas de crecimiento individuales representativas para ratones tratados con anti-CTLA4 o activador de 4-1BB.

La FIG. 30E muestra gráficos representativos que muestran los resultados de la nueva exposición tumoral en ratones que sobrevivieron 50 días con regresión completa tumoral después del tratamiento con la combinación sinérgica de ADWA-11_4mut y

anti-CTLA4 o la combinación sinérgica de ADWA-11_4mut y el activador de 4-1BB. Los ratones de control no fueron expuestos previamente al tumor. Se evaluaron los ratones nuevamente expuestos durante 30 días. n = 5 control, n = 6 ADWA-11_4mut + anti-CTLA4, n = 5 ADWA-11_4mut + 4-1BB.

5 **La FIG. 31A** representa el análisis de la expresión génica de ARNm en tejido tumoral MC38 usando sondas taqman específicas de CD8a y granzima B. Se recolectó tejido tumoral 12 días después de la primera dosis de control de isotipo o anticuerpo ADWA11 2.4 al nivel de dosificación indicado. Los tratamientos se administraron por vía intravenosa el día 1, el día 5 y el día 9 del estudio, se incluyeron 5 ratones en cada grupo de tratamiento. * = valor de p <0.05.

10 **La FIG. 31B** muestra gráficos representativos que representan la tasa de crecimiento tumoral en el modelo de tumor MC38 en isotipo (10 mg/kg), ADWA11 2.4 (10 mg/kg), anticuerpo anti-PD-1 (RMP1-14, 10 mg/kg) y ADWA11 2.4 combinado (10 mg/kg) y ratones tratados con anticuerpo anti-PD1 (RMP1-14, 10 mg/kg). Además, los gráficos representativos que muestran la tasa de crecimiento tumoral de tumores MC38 en ratones tratados con anticuerpo ADWA11 (anti-ITGAVB8 (ADWA11_mIgG_4mut) a una dosis de 0.03, 0.3, 3 y 30 mg/kg en combinación con 10 mg/kg de anticuerpo anti-PD-1 (RMP1-14). Para todos los gráficos, los anticuerpos se administraron los días 1, 5 y 9 del estudio.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

En el presente documento se describen anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos que se unen específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ (ej., integrina $\alpha\beta 8$ de humano) y, además, anticuerpos que antagonizan la actividad de la integrina $\alpha\beta 8$ (ej., antagoniza la activación de TGF β , antagoniza la mediación de la producción de TGF β , antagoniza la modulación de células Tregs y Th17) o su interacción con TGF $\beta 1$ y TGF $\beta 3$, o la liberación de TGF β activo. Se proporcionan métodos para preparar anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$, composiciones que comprenden anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$ y métodos para usar anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$. En algunas modalidades, se proporcionan anticuerpos recombinantes, ej., humanizados, que se unen a la integrina $\alpha\beta 8$ (ej., la integrina $\alpha\beta 8$ de humano). En algunas modalidades, también se proporcionan cadenas pesadas y cadenas ligeras de anticuerpos humanizados que son capaces de formar anticuerpos que se unen a la

integrina $\alpha\beta8$. En algunas modalidades, se proporcionan anticuerpos humanizados, cadenas pesadas y cadenas ligeras que comprenden una o más regiones determinantes de complementariedad (CDR) particulares. En algunas modalidades, los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta8$ humanizados tienen funciones efectoras alteradas.

- 5 En algunas modalidades, los anticuerpos de la invención tienen una actividad reducida de citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos (ADCC) y/o una actividad de citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) con respecto a los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta8$ por lo demás idénticos de la invención.

Se proporcionan polinucleótidos que codifican anticuerpos que se unen a la integrina $\alpha\beta8$ (ej., la integrina $\alpha\beta8$ de humano), o fragmentos de unión a antígenos de los mismos. También se proporcionan polinucleótidos que codifican cadenas pesadas o ligeras de anticuerpos. Se proporcionan células huésped que expresan anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta8$, incluidos anticuerpos humanizados. Se proporcionan métodos de tratamiento que utilizan anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta8$, incluidos anticuerpos humanizados.

Los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta8$ y los fragmentos de unión a antígeno de los mismos, incluidos los anticuerpos humanizados, pueden usarse en la prevención, tratamiento y/o mejora de enfermedades, trastornos o afecciones causadas por y/o asociadas con la señalización aberrante de TGF β (ej., aumentada). Tales enfermedades, trastornos o afecciones incluyen cáncer (ej., el control de la proliferación de células cancerosas con señalización aberrante de TGF β (ej., aumentada)).

Sin desear estar ligado a una teoría en particular, el TGF β maduro está presente en forma inactiva o latente en un complejo con el dominio del péptido asociado a la latencia (LAP). La unión de la integrina $\alpha\beta8$ al LAP da como resultado la liberación de TGF β activo (ej., TGF β 1 y TGF β 3). La reducción de la unión de la integrina $\alpha\beta8$ al LAP puede prevenir la liberación de TGF β activo, reduciendo así la señalización de TGF β . Se sabe que el TGF β tiene efectos inmunosupresores, ej., en el microambiente tumoral, por lo que la reducción de la actividad del TGF β y/o la señalización usando los anticuerpos descritos aquí puede resultar en la activación de una respuesta inmunitaria, ej., una respuesta antitumoral *in vivo*. Por tanto, los anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la divulgación permiten un antagonismo selectivo de la actividad de TGF β en el sistema inmunológico y/o el microambiente tumoral, mejorando así una respuesta inmunitaria antitumoral en un sujeto. En algunas modalidades descritas en los Ejemplos de este documento, se ha demostrado que los anticuerpos, y

fragmentos de unión a antígeno de los mismos contra la integrina $\alpha\beta 8$ causan supresión del crecimiento y/o la regresión completa del tumor en modelos animales para varios cánceres, incluido el carcinoma de células escamosas, cáncer de mama y colon, solo o en combinación con otros inmunomoduladores, tales como moduladores de inhibidores de punto de control (ej., inhibidores de PD-1, PD-L1, CTLA-4 o agonistas de 4-1BB), o terapias contra el cáncer, ej., radioterapia. Por lo tanto, los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$ y fragmentos de unión a antígeno del mismo, incluidos los anticuerpos humanizados, pueden usarse, solos o en combinación con una segunda terapia, en la prevención, tratamiento y/o mejora de un cáncer, ej., un tumor sólido, ej., un tumor sólido elegido entre: carcinoma de células renales (CCR), un cáncer de ovario o un carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (SCCHN).

Los títulos de las secciones que aparecen aquí son para fines de organización solamente y no deben interpretarse como limitantes de la materia descrita.

Todas las referencias citadas en este documento, incluyendo las solicitudes de patente, las publicaciones de patentes y los números de acceso a Genbank se incorporan aquí como referencia, como si cada referencia individual estuviera específica e individualmente indicada para ser incorporada por referencia en su totalidad.

Las técnicas y procedimientos descritos o referenciados en este documento generalmente se entienden bien y se emplean comúnmente utilizando una metodología convencional por los expertos en la técnica, tal como, por ejemplo, las metodologías ampliamente utilizadas descritas en Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, tercera edición (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY (F. M. Ausubel, Eds., (2003)); serie METHODS IN ENZYMOLOGY (Academic Press, Inc.): PCR 2: A PRACTICAL APPROACH (M. J. MacPherson, B. D. Hames y G. R. Taylor eds. (1995)), Harlow y Lane, eds. (1988) ANTIBODIES, A LABORATORY MANUAL, y ANIMAL CELLURE CULTURE (R. I. Freshney, ed. (1987)); Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R. I. Freshney), ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather y P. E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture Laboratory Procedures (A. Doyle, J. B. Griffiths, y D. G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley y Sons; Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir y C. C. Blackwell, eds); Gene Transfer Vectors

for *Mammalian Cells* (J. M. Miller y M. P. Calos, eds., 1987); *PCR: The Polymerase Chain Reaction*, (Mullis, eds., 1994); *Current Protocols in Immunology* (J. E. Coligan, eds., 1991); *Short Protocols in Molecular Biology* (Wiley y Sons, 1999); *Immunobiology* (C. A. Janeway y P. Travers, 1997); *Antibodies* (P. Finch, 1997); *Antibodies: A Practical Approach* (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); *Monoclonal Antibodies: A Practical Approach* (P. Shepherd y C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); *Using Antibodies: A Laboratory Manual* (E. Harlow y D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999)); *The Antibodies* (M. Zanetti y J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995); y *Cancer: Principles and Practice of Oncology* (V. T. DeVita, eds., J.B. Lippincott Company, 1993); y versiones actualizadas de los mismos.

I. DEFINICIONES

La presente invención puede entenderse más fácilmente como referencia a la siguiente descripción detallada de modalidades de ejemplo de la invención y los ejemplos incluidos en la misma.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados aquí tienen el mismo significado que el comúnmente entendido por alguien de experiencia ordinaria en la técnica a la que pertenece esta invención. En caso de conflicto, la presente especificación, incluyendo las definiciones, servirán como control.

Además, a menos que el contexto requiera o indique expresamente lo contrario, los términos singulares incluirán las pluralidades y los términos en plural incluirán el singular.

Se entiende que los aspectos y las modalidades de la invención descritos en el presente documento incluyen aspectos y modalidades "que consisten en" y/o "que consisten esencialmente en". Como se usa en este documento, la forma singular "un", "una", "la" y "el" incluye referencias plurales a menos que se indique lo contrario.

En esta solicitud, el uso de "o" significa "y/o" a menos que un experto en la técnica lo indique o lo afirme expresamente. En el contexto de una reivindicación dependiente múltiple, el uso de "o" se refiere a más de una reivindicación anterior independiente o dependiente.

"Alrededor" o "aproximadamente", cuando se usa en relación con una variable numérica medible, se refiere al valor indicado de la variable y a todos los valores de la variable que están dentro del error experimental del valor indicado (ej., dentro del 95% de intervalo de confianza para la media) o dentro del 10 por ciento del valor indicado,

cualquiera que sea mayor. Los intervalos numéricos incluyen los números que definen el rango.

A pesar de que los rangos numéricos y los parámetros que establecen el amplio alcance de la invención son aproximaciones, los valores numéricos establecidos en los ejemplos específicos se informan con la mayor precisión posible. Sin embargo, cualquier valor numérico contiene inherentemente ciertos errores que resultan necesariamente a partir de la desviación estándar encontrada en sus respectivas mediciones de prueba. Además, debe entenderse que todos los rangos descritos en el presente documento abarcan cualquiera y todos los subintervalos incluidos en el mismo. Por ejemplo, se debe considerar un rango declarado de "1 a 10" para incluir cualquiera y todos los subintervalos entre (e inclusive) el valor mínimo de 1 y el valor máximo de 10; es decir, todos los subrangos que comienzan con un valor mínimo de 1 o más, *ej.*, 1 a 6.1, y finaliza con un valor máximo de 10 o menos, *ej.*, de 5.5 a 10.

A lo largo de esta memoria descriptiva y de las reivindicaciones, se entenderá que la palabra "comprende" o las variaciones tales como "que comprende" implica la inclusión de un número entero o un grupo de números enteros, pero no la exclusión de ningún otro número entero o grupo de números enteros. A menos que el contexto requiera lo contrario, los términos singulares incluirán las pluralidades y los términos en plural incluirán el singular. Cualquier ejemplo(s) seguido del término "*ej.*" o "por ejemplo" no pretende ser exhaustivo o limitativo.

Se entiende que siempre que se describan modalidades en el presente documento con el lenguaje "que comprende", de otra manera, también se proporcionan las modalidades análogas descritas en términos de "que consiste en" y/o "que consiste esencialmente en".

Cuando los aspectos o modalidades de la invención se describen en términos de un grupo Markush u otra agrupación de alternativas, la presente invención abarca no solo el grupo completo enumerado como un todo, sino a cada miembro del grupo individualmente y a todos los posibles subgrupos del grupo principal, pero también al grupo principal ausente uno o más de los miembros del grupo. La presente invención también contempla la exclusión explícita de uno o más de cualquiera de los miembros del grupo en la invención reivindicada.

Se debe entender que la terminología usada en la presente es con el propósito de describir modalidades particulares solamente, y no se pretende que sea limitante.

En esta especificación y en las reivindicaciones que siguen, se hará referencia a una serie de términos que se definirán para que tengan los siguientes significados.

El término "molécula aislada" (donde la molécula es, por ejemplo, un polipéptido o un polinucleótido es un anticuerpo o fragmento del mismo) es una molécula que, en virtud de su origen o fuente de derivación (1), no está asociada con componentes asociados de forma natural que lo acompañan en su forma nativa, (2) está sustancialmente libre de otras moléculas de la misma especie (3) es expresado por una célula de una especie diferente, o (4) no ocurre en la naturaleza. Por lo tanto, una molécula que se sintetiza químicamente, o se expresa en un sistema celular diferente de la célula de la que se origina naturalmente, se "aislará" de sus componentes asociados de forma natural. Una molécula también puede quedar sustancialmente libre de componentes asociados de forma natural mediante aislamiento, utilizando técnicas de purificación bien conocidas en la técnica. La pureza u homogeneidad de la molécula se puede analizar mediante varios medios bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, la pureza de una muestra polipeptídica puede analizarse usando electroforesis en gel de poliacrilamida y tinción del gel para visualizar el polipéptido usando técnicas bien conocidas en la técnica. Para ciertos fines, se puede proporcionar una resolución más alta mediante el uso de HPLC u otros medios bien conocidos en la técnica para la purificación.

Como se usa en este documento, "sustancialmente pura" significa que una especie objeto es la especie predominante presente (es decir, en una base molar es más abundante que cualquier otra especie individual en la composición), y preferiblemente una fracción sustancialmente purificada es una composición en donde las especies objeto (*ej.*, una glicoproteína, ue incluye un anticuerpo o receptor) comprenden al menos aproximadamente el 50 por ciento (en una base molar) de todas las especies macromoleculares presentes. En general, una composición sustancialmente pura comprenderá más de aproximadamente el 80 por ciento de todas las especies macromoleculares presentes en la composición, más preferiblemente más del 85%, 90%, 95% y 99% aproximadamente. Más preferiblemente, la especie objeto se purifica hasta homogeneidad esencial (las especies contaminantes no pueden detectarse en la composición por métodos de detección convencionales) donde la composición consiste esencialmente en una única especie macromolecular. En ciertas modalidades, un material sustancialmente puro es al menos 50% puro (es decir, libre de contaminantes), más preferiblemente, al menos 90% puro, más preferiblemente, al

menos 95% puro, aún más preferiblemente, al menos 98% puro, y más preferiblemente, al menos 99% puro.

El término "identidad", como se conoce en la técnica, se refiere a una relación entre las secuencias de dos o más moléculas de polipéptidos o dos o más moléculas de ácido nucleico, según se determina al comparar las secuencias. En la técnica, "identidad" también significa el grado de relación de secuencia entre secuencias polipeptídicas o secuencias de moléculas de ácido nucleico, según sea el caso, como se determina por la coincidencia entre hebras de secuencias de nucleótidos o aminoácidos. La "identidad" mide el porcentaje de coincidencias idénticas entre dos o más secuencias con alineaciones de espacios direccionadas mediante un modelo matemático particular de programas de computadora (es decir, "algoritmos").

El término "similitud" es un concepto relacionado, pero en contraste con "identidad", se refiere a una medida de similitud que incluye coincidencias idénticas y coincidencias de sustitución conservadoras. Dado que las sustituciones conservativas se aplican a los polipéptidos y no a las moléculas de ácido nucleico, la similitud solo trata con las comparaciones de secuencias de polipéptidos. Si dos secuencias polipeptídicas tienen, por ejemplo, 10 de los 20 aminoácidos idénticos, y el resto son todas sustituciones no conservadoras, entonces el porcentaje de identidad y similitud serían ambos del 50%. Si en el mismo ejemplo, hay 5 posiciones más donde hay sustituciones conservadoras, entonces el porcentaje de identidad sigue siendo del 50%, pero el porcentaje de similitud sería del 75% (15 de 20). Por lo tanto, en los casos en que existen sustituciones conservadoras, el grado de similitud entre dos secuencias polipeptídicas será mayor que el porcentaje de identidad entre esas dos secuencias.

Los "fragmentos" o "porciones" de anticuerpos o polipéptidos de acuerdo con la invención se pueden hacer por truncamiento, ej., mediante la eliminación de uno o más aminoácidos de los extremos N y/o C-terminal de un polipéptido. De esta manera, se pueden eliminar del extremo N y/o C terminal hasta 10, hasta 20, hasta 30, o hasta 40 o más aminoácidos. Los fragmentos también pueden generarse mediante una o más eliminaciones internas.

Un anticuerpo variante puede comprender 1, 2, 3, 4, 5, hasta 10, hasta 20, hasta 30 o más sustituciones de aminoácidos y/o deleciones y/o inserciones de las secuencias y fragmentos específicos descritos anteriormente. Las variantes de "eliminación" pueden comprender la eliminación de aminoácidos individuales, la eliminación de grupos pequeños de aminoácidos tales como 2, 3, 4 o 5 aminoácidos, o

la eliminación de regiones de aminoácidos más grandes, tales como la eliminación de dominios de aminoácidos específicos u otras características. Las variantes de "inserción" pueden comprender la inserción de aminoácidos individuales, la inserción de grupos pequeños de aminoácidos tales como 2, 3, 4 o 5 aminoácidos, o la inserción de regiones de aminoácidos más grandes, como la inserción de dominios de aminoácidos específicos u otras características. Las variantes de "sustitución" implican preferiblemente la sustitución de uno o más aminoácidos con el mismo número de aminoácidos y la modalidad de sustituciones conservadoras de aminoácidos. Por ejemplo, un aminoácido puede estar sustituido con un aminoácido alternativo que tenga propiedades similares, por ejemplo, otro aminoácido básico, otro aminoácido ácido, otro aminoácido neutro, otro aminoácido cargado, otro aminoácido hidrófilo, otro aminoácido hidrófobo, otro aminoácido polar, otro aminoácido aromático u otro aminoácido alifático.

Las variantes de sustitución tienen al menos un residuo de aminoácido en la molécula de anticuerpo eliminada y un residuo diferente insertado en su lugar. Los sitios de mayor interés para la mutagénesis de sustitución incluyen las regiones hipervariables, pero las alteraciones marco también se contemplan. Las sustituciones conservadoras se muestran a continuación bajo el título de "sustituciones conservadoras". Si tales sustituciones resultan en un cambio en la actividad biológica, entonces más cambios sustanciales, denominados "sustituciones de ejemplo" mostradas a continuación, o como se describe a continuación en referencia a las clases de aminoácidos, se pueden introducir y se seleccionan los productos.

Aminoácidos y Sustituciones

Residuo original	Sustituciones conservadoras	Sustituciones de ejemplo
alanina Ala (A)	Val	Val; Leu; Ile
arginina Arg (R)	Lys	Lys; Gln; Asn
asparagina Asn (N)	Gln	Gln; His; Asp, Lys; Arg
aspártico Asp (D)	Glu	Glu; Asn
cisteina Cys (C)	Ser	Ser; Ala
glutamina Gln (Q)	Asn	Asn; Glu
glutamina Glu (E)	Asp	Asp; Gln
glicina Gly (G)	Ala	Ala

Residuo original	Sustituciones conservadoras	Sustituciones de ejemplo
histidina His (H)	Arg	Asn; Gln; Lys; Arg
isoleucina Ile (I)	Leu	Leu; Val; Met; Ala; Phe; Norleucina
leucina Leu (L)	Ile	Norleucina; Ile; Val; Met; Ala; Phe
lisina Lys (K)	Arg	Arg; Gln; Asn
metionina Met (M)	Leu	Leu; Phe; Ile
fenilalanina Phe (F)	Tyr	Leu; Val; Ile; Ala; Tyr
prolina Pro (P)	Ala	Ala
serina Ser (S)	Thr	Thr
treonina Thr (T)	Ser	Ser
triptófano Trp (W)	Tyr	Tyr; Phe
tirosina Tyr (Y)	Phe	Trp; Phe; Thr; Ser
valina Val (V)	Leu	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; Norleucina

Las modificaciones sustanciales en las propiedades biológicas del anticuerpo se logran seleccionando sustituciones que difieren significativamente en su efecto para mantener (a) la estructura del esqueleto polipeptídico en el área de sustitución, por ejemplo, como una conformación de lámina beta o una conformación helicoidal, (b) la carga o hidrofobicidad de la molécula en el sitio objetivo, o (c) el grueso de la cadena lateral. Residuos de origen natural se dividen en grupos basados en propiedades comunes de cadena lateral:

- i. No polar: Norleucina, Met, Ala, Val, Leu, Ile;
- ii. Polar sin carga: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;
- iii. Ácido (con carga negativa): Asp, Glu;
- iv. Básico (con carga positiva): Lys, Arg;
- v. Residuos que influyen en la orientación de cadena: Gly, Pro; y
- vi. Aromáticos: Trp, Tyr, Phe, His.

Las sustituciones no conservadoras se realizan al intercambiar un miembro de una de estas clases por otra clase.

Un tipo de sustitución, por ejemplo, que se puede hacer es cambiar una o más cisteínas en el anticuerpo, que pueden ser químicamente reactivas, por otro residuo, tal como, sin limitación, alanina o serina. Por ejemplo, puede haber una sustitución de una cisteína no canónica (ej., no preferida o común). La sustitución se puede realizar en una CDR o una región marco de un dominio variable o en la región constante de un anticuerpo. En algunas modalidades, la cisteína es canónica (ej., la preferida o la más habitual). Cualquier residuo de cisteína que no esté involucrado en el mantenimiento de la conformación adecuada del anticuerpo también puede ser sustituido, generalmente con serina, para mejorar la estabilidad oxidativa de la molécula y prevenir la reticulación aberrante. A la inversa, los enlaces de cisteína se pueden añadir al anticuerpo para mejorar su estabilidad, particularmente cuando el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo tal como un fragmento Fv.

Un "anticuerpo" es una molécula de inmunoglobulina capaz de unirse específicamente a un objetivo, como un carbohidrato, polinucleótido, lípido, polipéptido, etc., a través de al menos un sitio de reconocimiento de antígeno, ubicado en la región variable de la molécula de inmunoglobulina. Como se usa en este documento, el término abarca no solo anticuerpos policlonales o monoclonales intactos, sino también, a menos que se especifique lo contrario, cualquier fragmento de unión a antígeno del mismo que compita con el anticuerpo intacto para la unión específica, proteínas de fusión que comprenden un fragmento de unión a antígeno y cualquier otra configuración modificada de la molécula de inmunoglobulina que comprende un sitio de reconocimiento de antígeno. Los fragmentos de unión a antígeno incluyen, por ejemplo, Fab, Fab', F(ab')₂, Fd, Fv, anticuerpos de dominio (dAbs, *ej.*, anticuerpos de tiburón y camélido), fragmentos que incluyen regiones determinantes de complementariedad (CDR), anticuerpos de fragmento variable de cadena sencilla (scFv), maxicuerpos, minicuerpos, intracuerpos, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, v-NAR y bis-scFv y polipéptidos que contienen al menos un fragmento de una inmunoglobulina que es suficiente para conferir una unión de antígeno específica al polipéptido.

Un anticuerpo incluye un anticuerpo de cualquier clase, como IgG, IgA o IgM (o subclase de los mismos), y el anticuerpo no necesita ser de ninguna clase en particular. Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del anticuerpo de la región constante de sus cadenas pesadas (HC), las inmunoglobulinas se pueden asignar a diferentes clases. Existen cinco clases principales de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG, y IgM, y varios de estos pueden dividirse adicionalmente en subclases (isotipos), *ej.*, IgG₁,

IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ y IgA₂. Las regiones constantes de cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de inmunoglobulinas se denominan alfa, delta, épsilon, gamma y mu, respectivamente. Las estructuras de subunidades y configuraciones tridimensionales de diferentes clases de inmunoglobulinas son bien conocidas.

Los términos "porción de unión a antígeno" o "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo (o simplemente "porción de anticuerpo"), como se usan indistintamente en el presente documento, se refieren a uno o más fragmentos de un anticuerpo que retienen la capacidad de unirse específicamente a un antígeno (por ejemplo, integrina $\alpha\beta\delta$). Se ha demostrado que la función de unión a antígeno de un anticuerpo puede realizarse por fragmentos de un anticuerpo de longitud completa. Ejemplos de fragmentos de unión incluidos dentro del término "fragmento de unión a antígeno" de un anticuerpo incluyen (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste en los dominios VL, VH, CL y CH1; (ii) un fragmento F(ab')₂, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra; (iii) un fragmento Fd que consiste en los dominios VH y CH1; (iv) un fragmento Fv que consiste en los dominios VL y VH de un solo brazo de un anticuerpo, (v) un fragmento dAb (Ward, (1989) *Nature* 341: 544-546), que consiste en un dominio VH; y (vi) una región determinante de complementariedad (CDR) aislada, Fvs unidos por disulfuro (dsFv) y anticuerpos e intracuerpos antiidiotípicos (anti-Id). Además, aunque los dos dominios del fragmento Fv, VL y VH, están codificados por genes separados, pueden unirse, usando métodos recombinantes, por un enlazador sintético que les permite ser hechos como una sola cadena proteica en la que las regiones VL y VH se parean para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv de cadena sencilla (scFv); véase, por ejemplo, Bird, (1988) *Science* 242:423-426, 1988; y Huston *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 85:5879-5883 (1988)). Tales anticuerpos de cadena sencilla también están destinados a estar comprendidos dentro del término "fragmento de unión al antígeno" de un anticuerpo". También se abarcan otras formas de anticuerpos de cadena sencilla, tales como los diacuerpos. Los diacuerpos son anticuerpos bivalentes biespecíficos en los que los dominios VH y VL se expresan en una cadena sencilla de polipéptidos, pero usan un conector que es demasiado corto para permitir el emparejamiento entre los dos dominios en la misma cadena, lo que obliga a los dominios a emparejarse con dominios de complementariedad de otra cadena y crear

dos sitios de unión a antígeno (véase, *ej.*, Holliger, Natl. Acad. Sci. EE.UU. 90:6444-6448 (1993); Poljak, 1994, *Structure* 2:1121-1123).

Los anticuerpos pueden derivarse de cualquier mamífero, que incluye, pero no se limita a, humanos, monos, cerdos, caballos, conejos, perros, gatos, ratones, etc., u otros animales como pájaros (*ej.*, pollos), peces (*ej.*, tiburones) y camélidos (*ej.*, llamas).

Una "región variable" de un anticuerpo se refiere a la región variable de la cadena ligera del anticuerpo (VL) o la región variable de la cadena pesada del anticuerpo (VH), ya sea sola o en combinación. Como se conoce en la técnica, las regiones variables de las cadenas pesada y ligera cada una consisten en cuatro regiones marco (FR) conectadas por tres "regiones determinantes de complementariedad (CDR)", también conocidas como regiones hipervariables (HVR), y contribuyen a la formación del sitio de unión al antígeno de los anticuerpos. Si se desean variantes de una región variable del sujeto, particularmente con la sustitución en residuos de aminoácidos fuera de una región CDR (es decir, en la región marco), puede identificarse la sustitución de aminoácidos apropiada, preferiblemente la sustitución conservadora de aminoácidos, al comparar el región variable en cuestión a las regiones variables de otros anticuerpos que contienen secuencias CDR1 y CDR2 en la misma clase canónica que la región variable en cuestión (Chothia y Lesk, J. Mol. Biol. 196(4): 901-917, 1987).

En ciertas modalidades, la delineación definitiva de una CDR y la identificación de los residuos que comprenden el sitio de unión de un anticuerpo se logra al resolver la estructura del anticuerpo y/o al resolver la estructura del complejo anticuerpo-ligando. En ciertas modalidades, eso puede lograrse mediante cualquiera de una variedad de técnicas conocidas por los expertos en la técnica, tales como la cristalografía de rayos X. En ciertas modalidades, se pueden emplear diversos métodos de análisis para identificar o aproximar las regiones CDR. En ciertas modalidades, se pueden emplear diversos métodos de análisis para identificar o aproximar las regiones CDR. Ejemplos de tales métodos incluyen, pero no se limitan a, la definición de Kabat, la definición de Chothia, la definición de AbM, la definición de contacto y la definición conformacional.

Existen varios métodos de numeración en la técnica para numerar los residuos de aminoácidos que forman las CDR. El método de numeración de Kabat es un estándar para numerar los residuos en un anticuerpo y también se usa típicamente para identificar las CDR. Véase, *ej.*, Johnson & Wu, 2000, *Nucleic Acids Res.*, 28: 214-8. La

definición de Chothia es similar a la definición de Kabat, pero la definición de Chothia tiene en cuenta las posiciones de ciertas regiones de bucle estructural. Véase, *ej.*, Chothia, 1986, *J. Mol. Biol.*, 196: 901-17; Chothia, 1989, *Nature*, 342: 877-83. La definición de AbM utiliza un conjunto integrado de programas informáticos producidos por Oxford Molecular Group que modelan la estructura de los anticuerpos. Véase, *ej.*, Martin, 1989, *Proc Natl Acad Sci (EE. UU.)*, 86: 9268-9272; “*AbM™, A Computer Program for Modeling Variable Regions of Antibodies*”, Oxford, Reino Unido; Oxford Molecular, Ltd. La definición de AbM modela la estructura terciaria de un anticuerpo a partir de una secuencia primaria que utiliza una combinación de bases de datos de conocimiento y métodos *ab initio*, como los descritos por Samudrala, 1999, “*Ab Initio Protein Structure Prediction Using a Combined Hierarchical Approach*,” in *PROTEINS, Structure, Function and Genetics Suppl.*, 3:194-198.

La definición de contacto se basa en un análisis de las estructuras cristalinas complejas disponibles. Véase, *ej.*, MacCallum, 1996, *J. Mol. Biol.*, 5:732-45. En otro enfoque, denominado en el presente documento como la "definición conformacional" de las CDR, las posiciones de las CDR pueden identificarse como los residuos que hacen contribuciones entálpicas a la unión al antígeno. Véase, *ej.*, Makabe, 2008, *Journal of Biological Chemistry*, 283:1156-1166. Aún otras definiciones de los límites de las CDR pueden no seguir estrictamente uno de los enfoques anteriores, pero sin embargo se superpondrán con al menos una parte de las CDR de Kabat, aunque pueden acortarse o alargarse a la luz de la predicción o hallazgos experimentales de residuos particulares o grupos de residuos. no impactan significativamente la unión al antígeno. Como se usa en el presente documento, una CDR puede referirse a CDR definidas por cualquier enfoque conocido en la técnica, incluidas combinaciones de enfoques. Los métodos utilizados en este documento pueden utilizar las CDR definidas de acuerdo con cualquiera de estos enfoques. Para cualquier modalidad dada que contenga más de una CDR, las CDR pueden definirse de acuerdo con cualquiera de las definiciones de Kabat, Chothia, extendida, AbM, contacto y/o conformacional.

Los "residuo de contacto", como se usa en el presente documento con respecto a un anticuerpo o al antígeno específicamente unido a él, se refiere a un residuo de aminoácido presente en un anticuerpo/antígeno que comprende al menos un átomo pesado (es decir, no hidrógeno) que está dentro de 4 Å o menos de un átomo pesado de un residuo de aminoácido presente en el anticuerpo/antígeno afín.

Los residuos "marco" (FR) son residuos de dominio variable de anticuerpos distintos de los residuos de CDR. Un marco de dominio VH o VL comprende cuatro subregiones marco, FR1, FR2, FR3 y FR4, intercaladas con las CDR en la siguiente estructura: FR1 – CDR1 – FR2 – CDR2 – FR3 – CDR3 – FR4.

5 Los residuos en un dominio variable se numeran típicamente de acuerdo con Kabat, que proporciona un sistema de numeración usado para dominios variables de cadena pesada o dominios variables de cadena ligera de la compilación de anticuerpos. Véase, Kabat, 1991, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Quinta edición. Servicio de Salud Pública, Institutos Nacionales de Salud, Bethesda, MD. Al utilizar este
10 sistema de numeración, la secuencia de aminoácidos lineal real puede contener menos o más aminoácidos correspondientes a un acortamiento de o inserción en una FR o CDR del dominio variable. Por ejemplo, un dominio variable de cadena pesada puede incluir un único inserto de aminoácido (residuo 52a según Kabat) después del residuo 52 de H2 y residuos insertados (ej., residuos 82a, 82b y 82c, según Kabat) después del
15 residuo FR de cadena pesada 82. La numeración de Kabat de los residuos puede determinarse para un anticuerpo dado mediante la alineación en las regiones de homología de la secuencia del anticuerpo con una secuencia numerada de Kabat "estándar". Existen varios algoritmos para asignar la numeración de Kabat. El algoritmo implementado en la versión 2.3.3 de Abysis (www.abysis.org) se puede usar para
20 asignar la numeración de Kabat a las regiones variables CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3, CDR-H2 y CDR-H3, y la definición de AbM se puede usar para la CDR-H1.

Como se usa en el presente documento, "anticuerpo monoclonal" se refiere a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos excepto
25 por posibles mutaciones de origen natural que pueden estar presentes en cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales son altamente específicos y se dirigen contra un único sitio antigénico. Además, en contraste con las preparaciones de anticuerpos policlonales, que típicamente incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítomos), cada anticuerpo monoclonal se dirige contra un único
30 determinante en el antígeno. El modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, y no debe interpretarse como que requiere la producción del anticuerpo por ningún método particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales que se usarán de acuerdo con la presente invención pueden prepararse mediante el método de hibridoma

descrito por primera vez por Kohler y Milstein, 1975, *Nature* 256:495, o pueden elaborarse mediante métodos de ADN recombinante como los descritos en la patente de EE.UU. No. 4,816,567. Los anticuerpos monoclonales también pueden aislarse de las bibliotecas de fagos generadas que usan las técnicas descritas en McCafferty, 1990, *Nature* 348: 552-554, por ejemplo. Como se usa en el presente documento, el anticuerpo "humanizado" se refiere a formas de anticuerpos no humanos (*ej.*, murinos) que son inmunoglobulinas quiméricas, cadenas de inmunoglobulinas o fragmentos de las mismas (tales como Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ u otras subsecuencias de unión a antígenos de anticuerpos) que contienen una secuencia mínima derivada de la inmunoglobulina no humana. Preferiblemente, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas humanas (anticuerpo receptor) en que los residuos de una CDR del receptor se sustituyen por residuos de una CDR de una especie no humana (anticuerpo donante), tales como ratón, rata o conejo que tiene la especificidad, afinidad y capacidad deseadas. El anticuerpo humanizado puede comprender residuos que no se encuentran ni en el anticuerpo receptor ni en las secuencias marco o CDR importadas, sino que se incluyen para refinar y optimizar aún más el rendimiento del anticuerpo.

El anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la invención puede madurar por afinidad. Por ejemplo, un anticuerpo madurado por afinidad se puede producir por procedimientos conocidos en la técnica (Marks, 1992, *Bio/Technology*, 10: 779-783; Barbas, 1994, *Proc Nat. Acad. Sci*, EE.UU. 91:3809-3813; Schier, 1995, *Gene*, 169:147-155; Yelton, 1995, *J. Immunol.*, 155:1994-2004; Jackson, 1995, *J. Immunol.*, 154(7):3310-9; Hawkins, 1992, *J. Mol. Biol.*, 226:889-896; y WO2004/058184).

Un "anticuerpo humano" es uno que posee una secuencia de aminoácidos que corresponde a la de un anticuerpo producido por un humano y/o se ha hecho mediante el uso de cualquiera de las técnicas para preparar anticuerpos humanos como se describe en la presente. Esta definición de un anticuerpo humano excluye específicamente un anticuerpo humanizado que comprende residuos de unión a antígeno no humano.

El término "anticuerpo quimérico" se refiere a anticuerpos en los que las secuencias de región variable se derivan de una especie y las secuencias de región constante se derivan de otra especie, tal como un anticuerpo en el que las secuencias de región variable se derivan de un anticuerpo de ratón y las secuencias de región constante se derivan de un anticuerpo humano o viceversa. El término también abarca

un anticuerpo que comprende una región V de un individuo de una especie (*ej.*, un primer ratón) y una región constante de otro individuo de la misma especie (*ej.*, un segundo ratón).

El término "antígeno (Ag)" se refiere a la entidad molecular utilizada para la inmunización de un vertebrado inmunocompetente para producir el anticuerpo (Ab) que reconoce el Ag o para seleccionar una biblioteca de expresión (*ej.*, biblioteca de presentación de fagos, levaduras o ribosomas, entre otros). En la presente, Ag se denomina de manera más amplia y generalmente está destinado a incluir moléculas objetivo que son reconocidas específicamente por el Ab, por lo que incluye fragmentos o imitaciones de la molécula utilizada en un proceso de inmunización para elevar el Ab o en la selección de la biblioteca para seleccionar el Ab. Por tanto, para los anticuerpos de la invención que se unen a la integrina $\alpha\beta 8$, la integrina $\alpha\beta 8$ de longitud completa de especies de mamíferos (por ejemplo, la integrina $\alpha\beta 8$ humana, de mono, de ratón y de rata), incluidos los monómeros y multímeros, tales como dímeros, trímeros, etc. así como las variantes truncadas y otras de la integrina $\alpha\beta 8$, se denominan antígeno.

En general, el término "epítipo" se refiere al área o región de un antígeno (*ej.*, una proteína, ácido nucleico, carbohidrato o lípido, etc.) a la que se une específicamente un anticuerpo, es decir, un área o región en contacto físico con el anticuerpo. Por lo tanto, el término "epítipo" se refiere a esa porción de una molécula capaz de ser reconocida y unida por un anticuerpo en una o más de las regiones de unión al antígeno del anticuerpo. Típicamente, un epítipo se define en el contexto de una interacción molecular entre un "anticuerpo o porción de unión a antígeno del mismo" (Ab), y su antígeno correspondiente. Los epítipos a menudo consisten en una agrupación superficial de moléculas tales como aminoácidos o cadenas laterales de azúcar y tienen características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. En algunas modalidades, el epítipo puede ser un epítipo de proteína. Los epítipos de proteínas pueden ser lineales o conformacionales. En un epítipo lineal, todos los puntos de interacción entre la proteína y la molécula que interactúa (tal como un anticuerpo) ocurren linealmente a lo largo de la secuencia de aminoácidos primaria de la proteína. Un "epítipo no lineal" o "epítipo conformacional" comprende polipéptidos no contiguos (o aminoácidos) dentro de la proteína antigénica a la que se une un anticuerpo específico al epítipo. El término "epítipo antigénico" como se usa en el presente documento, se define como una porción de un antígeno al que se puede unir específicamente un anticuerpo según lo determinado por cualquier

método bien conocido en la técnica, por ejemplo, por inmunoensayos convencionales. Alternativamente, durante el proceso de descubrimiento, la generación y caracterización de anticuerpos puede dilucidar información acerca de epítomos deseables. A partir de esta información, entonces es posible seleccionar

- 5 competitivamente anticuerpos para la unión al mismo epítomo. Un enfoque para lograr esto es realizar estudios de competencia y competencia cruzada para encontrar anticuerpos que compitan o compitan entre sí para unirse a la integrina $\alpha\beta 8$, *ej.*, los anticuerpos compiten por unirse al antígeno.

Un anticuerpo que "se une preferentemente" o "se une específicamente" (término
10 utilizado indistintamente en este documento) a un epítomo es un término bien entendido en la técnica, y métodos para determinar dicha unión específica o preferencial también son bien conocidos en la técnica. Se dice que una molécula exhibe "unión específica" o "unión preferencial" si reacciona o se asocia más frecuentemente, más rápidamente,
con mayor duración y/o con mayor afinidad con una célula o sustancia en particular que
15 con células o sustancias alternativas. Un anticuerpo "se une específicamente" o "se une preferentemente" a un objetivo si se une con mayor afinidad, avidez, más fácilmente y/o con mayor duración que la que se une a otras sustancias. Además, un anticuerpo "se
une específicamente" o "se une preferentemente" a un objetivo si se une con mayor
afinidad, avidez, más fácilmente y/o con mayor duración a ese objetivo en una muestra
20 que a otras sustancias presentes en la muestra. Por ejemplo, un anticuerpo que se une específica o preferentemente a un epítomo de integrina $\alpha\beta 8$ es un anticuerpo que se une a este epítomo con mayor afinidad, avidez, más fácilmente y/o con mayor duración que se une a otros epítomos de integrina $\alpha\beta 8$ o epítomos de integrina no- $\alpha\beta 8$.
También se entiende al leer esta definición, por ejemplo, que un anticuerpo (o fracción
25 o epítomo) que se une específica o preferentemente a un primer objetivo puede o no unirse específica o preferentemente a un segundo objetivo. Como tal, la "unión específica" o "unión preferencial" no necesariamente requiere (aunque puede incluir) la unión exclusiva. En general, pero no necesariamente, la referencia a unión significa unión preferencial. La "unión específica" o "unión preferencial" incluye un compuesto,
30 *ej.*, una proteína, un ácido nucleico, un anticuerpo, y similares, que reconoce y se une a una molécula específica, pero no reconoce o se une sustancialmente a otras moléculas en una muestra. Por ejemplo, un anticuerpo o un receptor peptídico que reconoce y se une a un ligando afín o un par de unión (*ej.*, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta 8$ que se une a integrina $\alpha\beta 8$) en una muestra, pero no reconoce sustancialmente ni se une a

otras moléculas en la muestra, específicamente se une a ese ligando afín o par de unión. Por lo tanto, en condiciones de ensayo designadas, la fracción de unión especificada (*ej.*, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo o un receptor o una porción de unión a ligando del mismo) se une preferentemente a una molécula objetivo particular y no se une en una cantidad significativa para otros componentes presentes en una muestra de prueba.

Se puede usar una variedad de formatos de ensayo para seleccionar un anticuerpo o péptido que se una específicamente a una molécula de interés. Por ejemplo, inmunoensayo ELISA en fase sólida, inmunoprecipitación, Biacore™ (GE Healthcare, Piscataway, NJ), KinExA, clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS), Octet™ (FortéBio, Inc., Menlo Park, CA) y análisis de transferencia Western se encuentran entre muchos ensayos que pueden usarse para identificar un anticuerpo que reacciona específicamente con un antígeno o fragmento de unión a antígeno del mismo, o un receptor, o una porción de unión a ligando del mismo, que se une específicamente con un ligando o compañero de unión afín. Típicamente, una reacción específica o selectiva será al menos dos veces la señal de fondo o eruido, más típicamente más de 10 veces de fondo, incluso más típicamente, más de 50 veces de fondo, más típicamente, más de 100 veces de fondo, pero más típicamente, más de 500 veces de fondo, incluso más típicamente, más de 1000 veces de fondo, e incluso más típicamente, más de 10,000 veces de fondo. Además, se dice que un anticuerpo "se une específicamente" a un antígeno cuando la constante de disociación de equilibrio (K_D) es $\leq 1 \mu\text{M}$, preferiblemente $\leq 100 \text{ nM}$, más preferiblemente $\leq 10 \text{ nM}$, incluso más preferiblemente, $\leq 100 \text{ pM}$, aún más preferiblemente, $\leq 10 \text{ pM}$, e incluso más preferiblemente, $\leq 1 \text{ pM}$. En algunas modalidades, se dice que un anticuerpo "se une específicamente" a un antígeno cuando la constante de disociación de equilibrio (K_D) es $\leq 7 \text{ nM}$.

El término "afinidad de unión" se usa en el presente documento como una medida de la fuerza de una interacción no covalente entre dos moléculas, *ej.*, y un anticuerpo, o fragmento del mismo, y un antígeno. El término "afinidad de unión" se utiliza para describir las interacciones monovalentes (actividad intrínseca).

Además, para determinar la afinidad de unión de los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta8$ a las células que expresan la - integrina $\alpha\beta8$, se pueden realizar experimentos de unión celular para determinar la afinidad aparente. La afinidad aparente de unión del anticuerpo a las células que expresan el objetivo se puede

calcular como la EC_{50} de las curvas de titulación de unión en equilibrio en las que la intensidad de fluorescencia media geométrica (gMFI) de la población de unión al antígeno se cuantifica por citometría de flujo.

La afinidad de unión entre dos moléculas, *ej.*, un anticuerpo, o fragmento del mismo, y un antígeno, a través de una interacción monovalente puede cuantificarse mediante la determinación de la constante de disociación (K_D). En turno, K_D se puede determinar mediante la medición de la cinética de la formación y disociación de complejos usando, *ej.*, el método de resonancia de plasmón de superficie (SPR) (Biacore). Las constantes de tasa que corresponden a la asociación y la disociación de un complejo monovalente se denominan constantes de tasa de asociación k_a (o k_{on}) y constante de tasa de disociación k_d (o k_{off}), respectivamente. K_D está relacionado con k_a y k_d a través de la ecuación $K_D = k_d / k_a$. El valor de la constante de disociación puede determinarse directamente mediante métodos bien conocidos, y puede calcularse incluso para mezclas complejas mediante métodos tales los que, *ej.*, se exponen en Caceci, (1984, Byte 9: 340-362). Por ejemplo, la K_D puede establecerse utilizando un ensayo de unión a un filtro de nitrocelulosa de doble filtro como el descrito por Wong & Lohman (1993, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 90: 5428-5432). Otros ensayos estándar para evaluar la capacidad de unión de los ligandos tales como anticuerpos contra antígenos objetivo son conocidos en la técnica, incluyendo, por ejemplo, ELISA, transferencias de Western, RIA y análisis de citometría de flujo, y otros ensayos ejemplificados en otra parte en este documento. La cinética de unión y la afinidad de unión del anticuerpo también pueden evaluarse mediante ensayos estándar conocidos en la técnica, como la Resonancia de Plasmón de Superficie (SPR), *ej.*, mediante el uso de un sistema Biacore TM, o KinExA.

Se puede realizar un ensayo de unión competitiva en donde la unión del anticuerpo al antígeno se compara con la unión del objetivo por otro ligando de ese objetivo, tal como un anticuerpo o un receptor soluble que de otro modo se une al objetivo. La concentración a la que se produce una inhibición del 50% se conoce como K_i . En condiciones ideales, la K_i es equivalente a K_D . El valor K_i nunca será menor que la K_D , de manera que la medición de K_i convenientemente puede ser sustituida para proporcionar un límite superior para K_D .

Tras seguir la definición anterior, las afinidades de unión asociadas con diferentes interacciones moleculares, *ej.*, la comparación de la afinidad de unión de diferentes anticuerpos para un antígeno dado, pueden compararse al comparar los

valores de K_D para los complejos de anticuerpo/antígeno individuales. Los valores de K_D para anticuerpos u otros compañeros de unión pueden determinarse mediante el uso de métodos bien establecidos en la técnica. Un método para determinar la K_D es mediante el uso de resonancia de plasmón de superficie, generalmente utilizando un sistema biosensor como el sistema Biacore®.

De manera similar, la especificidad de una interacción puede evaluarse mediante la determinación y comparación del valor de K_D para la interacción de interés, *ej.*, una interacción específica entre un anticuerpo y un antígeno, con el valor de K_D de una interacción que no es de interés, *ej.*, un control de anticuerpos que no se unen a integrina $\alpha\beta 8$.

Un anticuerpo que se une específicamente a su objetivo puede unirse a su objetivo con una alta afinidad, es decir, exhibir una K_D bajo como se discutió anteriormente, y puede unirse a otras moléculas no objetivo con una afinidad más baja. Por ejemplo, el anticuerpo puede unirse a moléculas no objetivo con una K_D de 1×10^{-6} M o más, más preferiblemente 1×10^{-5} M o más, más preferiblemente 1×10^{-4} M o más, más preferiblemente 1×10^{-3} M o más, incluso más preferiblemente 1×10^{-2} M o más. Un anticuerpo de la invención es preferiblemente capaz de unirse a su objetivo con una afinidad que es al menos dos veces, 10 veces, 50 veces, 100 veces 200 veces, 500 veces, 1, 000 veces o 10,000 veces o más que su afinidad por unirse a otra molécula de integrina no- $\alpha\beta 8$.

El término "competir", como se usa en el presente documento con respecto a un anticuerpo, significa que un primer anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se une a un epítipo de una manera suficientemente similar a la unión de un segundo anticuerpo, o antígeno fragmento de unión del mismo, de modo que el resultado de unión del primer anticuerpo con su epítipo afín se reduce de manera detectable en presencia del segundo anticuerpo en comparación con la unión del primer anticuerpo en ausencia del segundo anticuerpo. La alternativa, donde la unión del segundo anticuerpo a su epítipo también se reduce de manera detectable en presencia del primer anticuerpo, puede, pero no es necesario que sea el caso. Es decir, un primer anticuerpo puede inhibir la unión de un segundo anticuerpo a su epítipo sin que ese segundo anticuerpo inhiba la unión del primer anticuerpo a su epítipo respectivo. Sin embargo, cuando cada anticuerpo inhibe de manera detectable la unión del otro anticuerpo con su epítipo o ligando afín, ya sea en el mismo, mayor o menor grado, se dice que los anticuerpos "compiten entre sí" por la unión de su(s) epítipo(s)

respectivo(s). La presente invención abarca tanto los anticuerpos competidores como los competidores cruzados. Independientemente del mecanismo por el cual se produce dicha competencia o competencia cruzada (*ej.*, Impedimento estérico, cambio conformacional o unión a un epítipo común, o una porción del mismo), el experto en la técnica apreciaría, según las enseñanzas proporcionadas en el presente documento, que tales anticuerpos de competencia y/o de competencia cruzada están abarcados y pueden ser útiles para los métodos descritos en la presente.

Se pueden usar ensayos de competencia estándar para determinar si dos anticuerpos compiten entre sí. Un ensayo adecuado para la competencia de anticuerpos implica el uso de la tecnología Biacore, que puede medir el alcance de las interacciones al usar la tecnología de resonancia de plasmón superficial (SPR), que generalmente usa un sistema biosensor (tal como un sistema BIACORE®). Por ejemplo, la SPR puede usarse en un ensayo de inhibición de unión competitiva *in vitro* para determinar la capacidad de un anticuerpo para inhibir la unión de un segundo anticuerpo. Otro ensayo para medir la competencia de anticuerpos utiliza un enfoque basado en ELISA.

Además, un proceso de alto rendimiento para los anticuerpos de "agrupamiento" con base en su competencia se describe en la Solicitud de Patente Internacional N° WO2003/48731. La competencia está presente si un anticuerpo (o fragmento) reduce la unión de otro anticuerpo (o fragmento) a integrina $\alpha\beta 8$. Por ejemplo, se puede usar un ensayo de competición de unión secuencial, con diferentes anticuerpos que se agregan secuencialmente. El primer anticuerpo se puede agregar para alcanzar la unión que está cerca de la saturación. Luego, se agrega el segundo anticuerpo. Si la unión del segundo anticuerpo a integrina $\alpha\beta 8$ no se detecta o se reduce significativamente (*ej.*, al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 20%, al menos aproximadamente 30%, 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% de reducción) en comparación con un ensayo paralelo en ausencia del primer anticuerpo (cuyo valor puede establecerse como 100%), se considera que los dos anticuerpos compiten entre sí.

Además, en el Ejemplo 9 se proporciona un ensayo de agrupación de epítopos de anticuerpos a modo de ejemplo que usa el intercambio de dominios entre proteínas de integrina $\alpha\beta 8$ de humano y de ratón para evaluar epítopos potenciales entre varios anticuerpos. El experto en la técnica

apreciaría, armado con las enseñanzas proporcionadas en el presente documento, que hay una amplia variedad de ensayos conocidos en la técnica que pueden usarse para determinar la unión a un objetivo de al menos dos anticuerpos entre sí, y tales ensayos se incluyen en este documento.

5 Los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$ se pueden caracterizar usando métodos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, un método es identificar el epítipo al que se une, o "mapeo de epítipos". Existen muchos métodos conocidos en la técnica para mapear y caracterizar la ubicación de los epítipos en las proteínas, incluida la resolución de la estructura cristalina de un complejo antígeno-anticuerpo, ensayos de
10 competencia, ensayos de expresión de fragmentos de genes y ensayos basados en péptidos sintéticos, como se describe, para ejemplo, en el Capítulo 11 de Harlow y Lane, *Using Antibodies, a Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, 1999. En un ejemplo adicional, el mapeo de epítipos se puede usar para determinar la secuencia a la que se une un anticuerpo de integrina
15 anti- $\alpha\beta 8$. El mapeo de epítipos está disponible comercialmente de varias fuentes, por ejemplo, Pepscan Systems (Edelhertweg 15, 8219 PH Lelystad, Países Bajos). El epítipo puede ser un epítipo lineal, es decir, contenido en un solo tramo de aminoácidos, o un epítipo conformacional formado por una interacción tridimensional de aminoácidos que no necesariamente puede estar contenido en un solo tramo. Los
20 péptidos de diferentes longitudes (ej., de al menos 4-6 aminoácidos de longitud) pueden aislarse o sintetizarse (ej., de forma recombinante) y usarse para ensayos de unión con anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$.

Además, el epítipo al que se une el anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta 8$ se puede determinar en un cribado sistemático utilizando péptidos superpuestos derivados de la
25 secuencia de integrina $\alpha\beta 8$ (ej., una secuencia de integrina $\alpha\beta 8$ humana) y determinando la unión por el anticuerpo. Según los ensayos de expresión de fragmentos génicos, el marco de lectura abierto que codifica la integrina $\alpha\beta 8$ puede fragmentarse al azar o mediante constructos genéticos específicos y se determina la reactividad de los fragmentos expresados de la integrina $\alpha\beta 8$ con el anticuerpo a
30 ensayar. Los fragmentos de genes pueden, por ejemplo, producirse por PCR y luego transcribirse y traducirse en proteínas *in vitro*, en presencia de aminoácidos radioactivos. La unión del anticuerpo a los fragmentos de integrina $\alpha\beta 8$ etiquetados de manera radiactiva a continuación se determinan luego por inmunoprecipitación y electroforesis en gel.

Ciertos epítomos también pueden identificarse mediante el uso de grandes bibliotecas de secuencias peptídicas aleatorias que se muestran en la superficie de partículas de fago (bibliotecas de fagos) o levadura (exhibición de levadura).

Alternativamente, una biblioteca definida de fragmentos de péptidos superpuestos

5 puede analizarse para la unión al anticuerpo de prueba en ensayos de unión simples.

En un ejemplo adicional, la mutagénesis de un antígeno, los experimentos de intercambio de dominios y la mutagénesis por barrido de alanina se pueden realizar para identificar los residuos requeridos, suficientes y/o necesarios para la unión del epítomo. Por ejemplo, los experimentos de mutagénesis de rastreo de alanina se

10 pueden realizar utilizando una integrina $\alpha\beta 8$ mutante en el que varios residuos del polipéptido de integrina $\alpha\beta 8$ han sido reemplazados por alanina. Al evaluar la unión del anticuerpo a la integrina $\alpha\beta 8$ mutante, se puede evaluar la importancia de los residuos de integrina $\alpha\beta 8$ particulares para la unión del anticuerpo.

Otro método que puede usarse para caracterizar un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta 8$ es usar ensayos de competencia con otros anticuerpos que se sabe que se unen al mismo antígeno, es decir, varios fragmentos en la integrina $\alpha\beta 8$, para determinar si un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta 8$ se une a el mismo epítomo que otros anticuerpos. Los ensayos de competencia son bien conocidos por los expertos en la técnica.

Además, el epítomo para un par de unión de anticuerpo/antígeno dado puede definirse y caracterizarse a diferentes niveles de detalle mediante el uso de una variedad de métodos de mapeo de epítomos experimentales y computacionales. Los métodos experimentales incluyen mutagénesis, cristalografía de rayos X,

espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN), espectrometría de masas de intercambio de hidrógeno/deuterio (H/D-MS) y varios métodos de unión competitiva

25 bien conocidos en la técnica. Puesto que cada método se basa en un principio único, la descripción de un epítomo está íntimamente relacionada con el método por el cual se ha determinado. Por lo tanto, el epítomo para un par de anticuerpo/antígeno dado se definirá de manera diferente dependiendo del método de mapeo del epítomo empleado.

En su nivel más detallado, el epítomo para la interacción entre el Ag y el Ab

30 puede definirse mediante las coordenadas espaciales que definen los contactos atómicos presentes en la interacción Ag-Ab, así como también la información sobre sus contribuciones relativas a la termodinámica de unión. En un nivel menos detallado, el epítomo puede caracterizarse por las coordenadas espaciales que definen los contactos atómicos entre el Ag y el Ab. En otro nivel menos detallado, el epítomo puede

caracterizarse por los residuos de aminoácidos que lo comprenden según lo definido por un criterio específico, *ej.*, por la distancia entre los átomos (*ej.*, átomos pesados, es decir, que no son de hidrógeno) en el Ab y el Ag. En un nivel menos detallado adicional, el epítopo puede caracterizarse a través de la función, *ej.*, mediante la unión de competencia con otros Abs. El epítopo también se puede definir de manera más genérica como que comprende residuos aminoácidos para los cuales la sustitución por otro aminoácido alterará las características de la interacción entre el Ab y el Ag (*ej.*, mediante el uso del barrido por alanina).

Del hecho de que las descripciones y definiciones de epítopos, que dependen del método de mapeo de epítopos utilizado, se obtienen a diferentes niveles de detalle, se deduce que la comparación de epítopos para diferentes Abs en el mismo Ag puede realizarse de manera similar a diferentes niveles de detalle.

Se dice que los epítopos descritos a nivel de aminoácidos, *ej.*, determinados a partir de una estructura de rayos X, son idénticos si contienen el mismo conjunto de residuos de aminoácidos. Se dice que los epítopos se superponen si al menos un aminoácido se comparte por el epítopo. Se dice que los epítopos son separados (únicos) si los epítopos no comparten ningún residuo de aminoácido.

Se dice que los epítopos caracterizados por la unión competitiva se superponen si la unión de los anticuerpos correspondientes es mutuamente excluyente, es decir, la unión de un anticuerpo excluye la unión simultánea o consecutiva del otro anticuerpo. Se dice que los epítopos están separados (únicos) si el antígeno puede acomodar la unión de ambos anticuerpos correspondientes de manera simultánea.

La definición del término "paratopo" se deriva de la definición anterior de "epítopo" mediante la inversión de la perspectiva. Por tanto, el término "paratopo" se refiere al área o región del anticuerpo que se une específicamente a un antígeno, es decir, los residuos de aminoácidos del anticuerpo que entran en contacto con el antígeno (integrina $\alpha\beta 8$, o una porción de la misma) como "contacto" se define en otra parte del presente documento.

El epítopo y el paratopo para un par de anticuerpo/antígeno dado puede identificarse mediante métodos de rutina. Por ejemplo, la ubicación general de un epítopo puede determinarse al evaluar la capacidad de un anticuerpo para unirse a diferentes fragmentos o polipéptidos de integrina $\alpha\beta 8$. Los aminoácidos específicos dentro de integrina $\alpha\beta 8$ que hacen contacto con un anticuerpo (epítopo) y los aminoácidos específicos en un anticuerpo que hacen contacto con integrina $\alpha\beta 8$

(paratopo) también se pueden determinar mediante el uso de métodos de rutina, como los descritos en los ejemplos. Por ejemplo, el anticuerpo y la molécula objetivo pueden combinarse y el complejo anticuerpo/antígeno puede cristalizarse. La estructura cristalina del complejo puede determinarse y usarse para identificar sitios específicos de interacción entre el anticuerpo y su objetivo.

Un anticuerpo de acuerdo con la presente invención puede unirse al mismo epítopo o dominio de la integrina $\alpha\beta 8$ (ej., integrina $\alpha\beta 8$ humana) que los anticuerpos de la invención que se describen específicamente en este documento. Los análisis y ensayos que pueden usarse con el fin de tal identificación incluyen ensayos que evalúan la competencia por la unión de la integrina $\alpha\beta 8$ entre el anticuerpo de interés y el receptor de la integrina $\alpha\beta 8$, en ensayos de actividad biológica como se describe en los Ejemplos 1-26.

Un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, puede tener la capacidad de competir o competir de forma cruzada con otro anticuerpo de la invención para unirse a la integrina $\alpha\beta 8$ (ej., integrina $\alpha\beta 8$ humana) como se describe en el presente documento. Por ejemplo, un anticuerpo de la invención puede competir o competir de forma cruzada con los anticuerpos descritos en el presente documento por unirse a integrina $\alpha\beta 8$, o a un fragmento o variante adecuado de integrina $\alpha\beta 8$ que está unido por los anticuerpos descritos en este documento.

Es decir, si un primer anticuerpo compite con un segundo anticuerpo por unirse a la integrina $\alpha\beta 8$, pero no compite cuando el segundo anticuerpo se une primero a la integrina $\alpha\beta 8$, se considera que "compite" con el segundo anticuerpo (también denominado competencia unidireccional). Cuando un anticuerpo compite con otro anticuerpo independientemente de cuál anticuerpo se une primero a la integrina $\alpha\beta 8$, entonces el anticuerpo "compite de forma cruzada" para unirse a la integrina $\alpha\beta 8$ con el otro anticuerpo. Dichos anticuerpos de competencia o de competencia cruzada pueden identificarse en función de su capacidad para competir/competir cruzadamente con un anticuerpo conocido de la invención en ensayos de unión estándar. Por ejemplo, SPR, ej., mediante el uso de un sistema Biacore™, los ensayos ELISA o la citometría de flujo pueden usarse para demostrar competencia/competencia cruzada. Tal competencia/competencia cruzada puede sugerir que los dos anticuerpos se unen a epítomos idénticos, superpuestos o similares.

Por lo tanto, un anticuerpo de la invención puede identificarse mediante un método que comprende un ensayo de unión que evalúa si un anticuerpo de prueba

puede competir o competir cruzadamente con un anticuerpo de referencia para un sitio de unión en la molécula objetivo. Los métodos para llevar a cabo ensayos de unión competitiva se describen en este documento y/o son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, pueden implicar unir un anticuerpo de referencia de la invención a una molécula objetivo que utiliza condiciones en las que el anticuerpo puede unirse a la molécula objetivo. El complejo anticuerpo/objetivo puede exponerse luego a un ensayo/segundo anticuerpo y puede evaluarse el grado en que el anticuerpo de prueba puede desplazar el anticuerpo de referencia de la invención de los complejos anticuerpo/objetivo. Un método alternativo puede implicar poner en contacto un anticuerpo de prueba con una molécula objetivo en condiciones que permitan la unión del anticuerpo, luego agregar un anticuerpo de referencia de la invención que sea capaz de unirse a esa molécula objetivo y evaluar en qué medida el anticuerpo de referencia de la invención es capaz de desplazar el anticuerpo de prueba de complejos anticuerpo/objetivo o unirse simultáneamente al objetivo (es decir, anticuerpo de no competencia).

La capacidad de un anticuerpo de prueba para inhibir la unión de un anticuerpo de referencia de la invención al objetivo demuestra que el anticuerpo de prueba puede competir con un anticuerpo de referencia de la invención para unirse al objetivo y, por lo tanto, el anticuerpo de prueba se une al mismo, o sustancialmente el mismo, epítipo o región en la proteína de integrina $\alpha\beta 8$ como el anticuerpo de referencia de la invención. Un anticuerpo de prueba que se identifica como competidor con un anticuerpo de referencia de la invención en dicho método también es un anticuerpo de la presente invención. El hecho de que el anticuerpo de prueba pueda unirse a la integrina $\alpha\beta 8$ en la misma región que un anticuerpo de referencia de la invención y pueda competir con el anticuerpo de referencia de la invención sugiere que el anticuerpo de prueba puede actuar como un ligando en el mismo sitio de unión que el anticuerpo de la invención y que el anticuerpo de prueba por lo tanto puede imitar la acción del anticuerpo de referencia y es, por lo tanto, un anticuerpo de la invención. Esto puede confirmarse al comparar la actividad de la integrina $\alpha\beta 8$ en presencia del anticuerpo de prueba con la actividad de la integrina $\alpha\beta 8$ en presencia del anticuerpo de referencia en condiciones por lo demás idénticas, utilizando un ensayo como se describe más completamente en otra parte del presente documento.

El anticuerpo de referencia, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la invención puede ser un anticuerpo como se describe en este documento, ej., un

anticuerpo en la Tabla 1, y cualquier variante o fragmento del mismo, como se describe en este documento, que conserva la capacidad de unirse a la integrina $\alpha\beta 8$.

Como se indicó anteriormente en otra parte del presente documento, la unión específica puede evaluarse con referencia a la unión del anticuerpo a una molécula que no es el objetivo. Esta comparación se puede hacer al comparar la capacidad de un anticuerpo para unirse al objetivo y a otra molécula. Esta comparación puede hacerse como se describe anteriormente en una evaluación de K_D o K_i . La otra molécula utilizada en dicha comparación puede ser cualquier molécula que no sea la molécula objetivo. Preferiblemente, la otra molécula no es idéntica a la molécula objetivo.

Preferiblemente, la molécula objetivo no es un fragmento de la molécula objetivo.

La otra molécula utilizada para determinar la unión específica puede no estar relacionada en su estructura o función con el objetivo. Por ejemplo, la otra molécula puede ser un material no relacionado o un material acompañante en el medio ambiente.

La otra molécula utilizada para determinar la unión específica puede ser otra molécula implicada en la misma ruta *in vivo* que la molécula objetivo, ej., la integrina $\alpha\beta 8$ (ej., la integrina $\alpha\beta 8$ humana). Al garantizar que el anticuerpo de la invención tenga especificidad para la integrina $\alpha\beta 8$ sobre otras moléculas de este tipo, se puede evitar la reactividad cruzada *in vivo* no deseada.

El anticuerpo de la invención puede retener la capacidad de unirse a algunas moléculas que están relacionadas con la molécula objetivo.

Alternativamente, el anticuerpo de la invención puede tener especificidad por una molécula objetivo particular. Por ejemplo, puede unirse a una molécula diana como se describe en el presente documento, pero puede no unirse, o puede unirse con una afinidad significativamente reducida a una molécula diana diferente como se describe en a presente. Por ejemplo, una integrina $\alpha\beta 8$ humana madura de longitud completa puede usarse como objetivo, pero el anticuerpo que se une a ese objetivo puede ser incapaz de unirse o puede unirse con menor afinidad, ej., otras proteínas de integrina $\alpha\beta 8$ de otras especies, tales como otra integrina $\alpha\beta 8$ de mamífero. En algunas modalidades, el anticuerpo se une tanto a integrina $\alpha\beta 8$ de humano como de ratón.

Una proteína de "fusión Fc" es una proteína en donde uno o más polipéptidos están operativamente unidos a un polipéptido Fc. Una fusión Fc combina la región Fc de una inmunoglobulina con un par de fusión.

Una "región Fc de secuencia nativa" comprende una secuencia aminoácida idéntica a la secuencia aminoácida de una región Fc encontrada en la naturaleza. Una

"región Fc variante" comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de aquella de una región Fc de secuencia nativa en virtud de al menos una modificación de aminoácido, pero aún conserva al menos una función efectora de la región Fc de secuencia nativa. Preferiblemente, la región Fc variante tiene al menos una sustitución de aminoácido en comparación con una región Fc de secuencia nativa o con la región Fc de un polipéptido precursor, *ej.*, de aproximadamente una a aproximadamente diez sustituciones de aminoácidos, y preferiblemente, de aproximadamente una a aproximadamente cinco sustituciones de aminoácidos en una región Fc de secuencia nativa o en la región Fc del polipéptido precursor. La región Fc variante en el presente documento poseerá preferiblemente al menos aproximadamente 80% de identidad de secuencia con una región Fc de secuencia nativa y/o con una región Fc de un polipéptido precursor, y lo más preferiblemente, al menos aproximadamente 90% de identidad de secuencia con la misma, más preferiblemente, en al menos aproximadamente el 95%, al menos aproximadamente el 96%, al menos aproximadamente el 97%, al menos aproximadamente el 98%, al menos aproximadamente el 99% de identidad de secuencia con la misma.

Como se conoce en la técnica, una "región constante" de un anticuerpo se refiere a la región constante de cadena ligera del anticuerpo o la región constante de cadena pesada del anticuerpo, ya sea sola o en combinación.

Los términos "región Fc de IgG", "región Fc", "dominio Fc" y "Fc", como se usan indistintamente en el presente documento, se refieren a la porción de una molécula de IgG que se correlaciona con un fragmento cristizable obtenido mediante digestión con papaína de una molécula de IgG. Como se usa en el presente documento, los términos se refieren a la región constante de un anticuerpo que excluye el primer dominio de inmunoglobulina de la región constante y se relaciona además con partes de esa región. Por lo tanto, Fc se refiere a los dos últimos dominios de inmunoglobulina de región constante de IgA, IgD e IgG, y los últimos tres dominios de inmunoglobulina de región constante de IgE e IgM, y el extremo N-terminal de bisagra flexible a estos dominios, o porciones de los mismos. Para IgA e IgM Fc puede incluir la cadena J. Para IgG, Fc comprende los dominios de inmunoglobulina Cy2 y Cy3 (C gamma 2 y C gamma 3) y la bisagra entre Cy1 (C gamma 1) y Cy2 (C gamma 2). Aunque los límites de la región Fc pueden variar, la región Fc de cadena pesada de IgG humana se define generalmente para comprender residuos C226 o P230 a sus extremos-carboxilo, en donde la numeración es de acuerdo con el índice de Eu de Edelman, 1969, Proc. Natl.

Acad. Sci. USA 63(1):78-85 como se describe en Kabat, 1991. Típicamente, el dominio Fc comprende de 236 a 447 residuos aminoácidos aproximadamente del dominio constante de IgG1 humana. Una secuencia de aminoácidos de dominio IgG1 Fc de tipo silvestre humano de ejemplo se expone en la SEC ID NO: 81 y la SEC ID NO: 82

5 (incluido un residuo de lisina (K) terminal opcional). El polipéptido Fc puede referirse a esta región en aislamiento, o esta región en el contexto de un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno, o proteína de fusión Fc.

10 El dominio constante de cadena pesada comprende la región Fc y además comprende el dominio CH1 y la bisagra, así como los dominios CH2 y CH3 (y, opcionalmente, CH4 de IgA e IgE) de la cadena pesada de IgG.

15 Una "región Fc funcional" posee al menos una función efectora de una región Fc de secuencia no modificada. Las "funciones efectoras" de ejemplo incluyen la unión de C1q; citotoxicidad dependiente del complemento; unión al receptor de Fc; citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos; fagocitosis; regulación descendente de los receptores de la superficie celular (ej., receptor de células B), etc. Tales funciones efectoras generalmente requieren que la región Fc se combine con un dominio de unión (ej., un dominio variable de anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo) y puede evaluarse usando varios ensayos conocidos en la técnica para evaluar tales funciones efectoras de anticuerpos.

20 Una "región Fc de secuencia nativa" comprende una secuencia aminoácida idéntica a la secuencia aminoácida de una región Fc encontrada en la naturaleza. Las regiones Fc humanas de secuencia no modificada incluyen una región Fc de IgG1 humana de secuencia no modificada (alotipos A y no A); región Fc de IgG2 de secuencia no modificada; región Fc de IgG3 de secuencia no modificada; y región Fc de IgG4 humana de secuencia no modificada, así como sus variantes que se producen de forma natural.

Una "región Fc variante" comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de aquella de una región Fc de secuencia nativa en virtud de al menos una modificación de aminoácido.

30 El "receptor Fc" o "FcR" describe un receptor que se une a la región Fc de un anticuerpo. En algunas modalidades, un Fc γ R es un FcR humano nativo. En algunas modalidades, un FcR es uno que se une a un anticuerpo IgG (un receptor gamma) e incluye receptores de las subclases Fc γ RI, Fc γ RII y Fc γ RIII, incluidas las variantes alélicas y formas empalmadas alternativamente de esos receptores. Los receptores

FcγRII incluyen FcγRIIA (un "receptor activador") y FcγRIIB (un "receptor inhibidor"), que tienen secuencias de aminoácidos similares que difieren principalmente en los dominios citoplásmicos de los mismos. El receptor de activación FcγRIIA contiene un motivo de activación basado en el inmunoreceptor de tirosina (ITAM) en su dominio citoplásmico. El receptor inhibidor FcγRIIB contiene un motivo de inhibición basado en el inmunoreceptor de tirosina (ITIM) en su dominio citoplasmático (véase, *ej.*, Daeron, *Annu. Rev. Immunol.* 15:203-234 (1997)). Los FcR se revisan, por ejemplo, en Ravetch y Kinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9: 457-92 (1991); Capel, *Immunomethods* 4: 25-34 (1994); y de Haas, *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41 (1995). Otros FcR, incluidos los que se identificarán en el futuro, están incluidos en el término "FcR" en este documento.

El término "receptor de Fc" o "FcR" también incluye el receptor neonatal, FcRn, que es responsable de la transferencia de IgG maternas al feto (Guyer, *J. Immunol.* 117:587 (1976) y Kim, *J. Immunol.* 24: 249 (1994)) y regulación de la homeostasis de las inmunoglobulinas. Se conocen métodos para medir la unión a FcRn (véase, *ej.*, Ghetie y Ward., *Immunol. Today* 18(12):592-598 (1997); Ghetie, *Nature Biotechnology*, 15 (7): 637-640 (1997); Hinton, *J. Biol. Chem.* 279(8):6213-6216 (2004); WO 2004/92219 (Hinton).

Las "funciones efectoras" se refieren a actividades biológicas atribuibles a la región Fc de un anticuerpo, que varían con el isotipo del anticuerpo. Ejemplos de funciones efectoras de anticuerpos incluyen: La unión a C1q y citotoxicidad dependiente de complemento (CDC); unión al receptor Fc; citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos (ADCC); fagocitosis; disminución de los receptores de la superficie celular (*ej.*, receptor de células B); y activación de las células B.

Las "células efectoras humanas" son leucocitos que expresan uno o más FcR y realizan funciones efectoras. En ciertas modalidades, las células expresan al menos FcγRIII y realizan una función o funciones efectoras de ADCC. Los ejemplos de leucocitos humanos que median la ADCC incluyen células mononucleares de sangre periférica (PBMC), células asesinas naturales (NK), monocitos, macrófagos, células T citotóxicas y neutrófilos. Las células efectoras pueden aislarse de una fuente nativa, *ej.*, de la sangre.

La "citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos" o "ADCC" se refiere a una forma de citotoxicidad en la que Ig secretada se une a receptores Fc (FcRs) presentes en ciertas células citotóxicas (*ej.*, células NK, neutrófilos y macrófagos) permitiendo que estas células efectoras citotóxicas se unan

específicamente a una célula diana portadora de antígeno y posteriormente eliminan la célula objetivo con citotoxinas. Las células primarias para mediar ADCC, células NK, expresan FcγRIII solamente, mientras que los monocitos expresan FcγRI, FcγRII y FcγRIII. La expresión de FcR en células hematopoyéticas se resume en la Tabla 3 en la
5 página 464 de Ravetch y Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991). Para evaluar la actividad de ADCC de una molécula de interés, un ensayo de ADCC *in vitro*, como el descrito en la patente de EE. UU. Nos. 5,500,362 o 5,821,337 o patente de EE. UU. No. 6.737.056 (Presta), se puede realizar. Las células efectoras útiles para tales ensayos incluyen células PBMC y NK. Alternativamente, o adicionalmente, la actividad ADCC de
10 la molécula de interés puede evaluarse *in vivo*, *ej.*, en un modelo animal tal como el descrito en Clynes, Proc. Natl. Acad. Sci. (EE.UU.) 95:652-656 (1998). Se describen anticuerpos adicionales con secuencias de aminoácidos de la región Fc alteradas y actividad de ADCC incrementada o disminuida, *ej.*, en la patente de EE.UU. No. 7,923,538, y patente de EE. UU. No. 7,994,290.

15 Un anticuerpo que tiene una "actividad de ADCC aumentada" se refiere a un anticuerpo que es más eficaz para mediar la ADCC *in vitro* o *in vivo* en comparación con el anticuerpo precursor, en donde el anticuerpo y el anticuerpo precursor difieren en al menos un aspecto estructural, y cuando las cantidades de tales anticuerpos y anticuerpos precursores utilizados en el ensayo son esencialmente los mismos. En
20 algunas modalidades, el anticuerpo y el anticuerpo original tienen la misma secuencia de aminoácidos, pero el anticuerpo está afucosilado mientras que el anticuerpo precursor está fucosilado. En algunas modalidades, la actividad de ADCC se determinará utilizando el ensayo de ADCC *in vitro* como se describe en este documento, pero otros ensayos o métodos para determinar la actividad de ADCC, *ej.*,
25 en un modelo animal, etc., se contemplan. En algunas modalidades, un anticuerpo con actividad ADCC aumentada tiene afinidad mejorada por Fc gamma RIIIA.

Un anticuerpo con afinidad de unión a FcR "alterada" o actividad de ADCC es uno que tiene actividad de unión a FcR bien sea aumentada o disminuida y/o actividad de ADCC en comparación con un anticuerpo original, en donde el anticuerpo y el
30 anticuerpo precursor difieren en al menos un aspecto estructural. Un anticuerpo que "muestra una unión aumentada" a un FcR se une al menos a un FcR con mejor afinidad que el anticuerpo precursor. Un anticuerpo que "muestra una unión disminuida" a un FcR, se une al menos a un FcR con menor afinidad que un anticuerpo precursor. Tales anticuerpos que muestran una unión disminuida a un FcR pueden poseer poca o

ninguna unión apreciable a un FcR, *ej.*, un 0-20 por ciento de unión al FcR en comparación con una secuencia de la secuencia de IgG Fc nativa.

La "afinidad mejorada por Fc gamma RIIIA" se refiere a un anticuerpo que tiene mayor afinidad por Fc gamma RIIIA (también denominado, en algunos casos, como CD 16a) que un anticuerpo precursor, en donde el anticuerpo y el anticuerpo precursor difieren en al menos uno aspecto estructural

"Glicoformo" se refiere a una estructura de oligosacáridos compleja que comprende enlaces de varias unidades de carbohidratos. Tales estructuras se describen, *ej.*, en Essentials of Glycobiology Varki, Eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1999), que también proporciona una revisión de la nomenclatura estándar de glicobiología. Tales glicoformas incluyen, pero no se limitan a, G2, G1, G0, G-1 y G-2 (véase, *ej.*, la publicación de patente internacional número WO 99/22764).

El "patrón de glicosilación" se define como el patrón de unidades de carbohidratos que se unen covalentemente a una proteína (*ej.*, la glicoforma), así como también al sitio(s) al que la(s) glicoforma(s) se unen covalentemente al esqueleto del péptido de una proteína, más específicamente a una proteína de inmunoglobulina.

"Citotoxicidad dependiente de complemento" o "CDC" se refiere a la lisis de una célula diana en presencia de complemento. La activación de la vía clásica de complemento se inicia mediante la unión del primer componente del sistema del complemento (C1q) a los anticuerpos (de la subclase apropiada), que están unidos a su antígeno cognado. Para evaluar la activación del complemento, un ensayo CDC, *ej.*, como se describe en Gazzano-Santoro, J. Immunol. Métodos 202: 163 (1996), se puede realizar. Los anticuerpos con secuencias de aminoácidos de la región Fc alteradas y una capacidad de unión a C1q aumentada o disminuida se describen, *ej.*, en la patente de EE.UU. No. 6, 194,551 B I, patente de EE.UU. No. 7,923,538, la Patente de EE.UU. No. 7.994.290 y WO 1999/51642. Véase también, *ej.*, Idusogie, J.

Como se usa en el presente documento, los términos "aminoácido de tipo silvestre", "IgG de tipo silvestre", "anticuerpo de tipo silvestre" o "mAb de tipo silvestre" se refieren a una secuencia de aminoácidos o ácidos nucleicos que ocurre naturalmente dentro de una cierta población (*ej.*, humanos, ratones, ratas, células, etc.).

El término "integrina $\alpha\beta 8$ ", como se usa en este documento, generalmente se refiere a un complejo proteico que comprende una subunidad de integrina alfa (*ej.*, una subunidad de integrina alfa-V, *ej.*, ITGAV, *ej.*, que comprende la secuencia de

aminoácidos de la SEC ID NO: 77) y una subunidad de integrina beta (ej., una subunidad beta 8 de integrina, ej., ITGB8, ej., que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 78). Una "integrina $\alpha\beta 8$ humana", como se usa en este documento, generalmente se refiere a una integrina $\alpha\beta 8$, ej., que comprende una subunidad alfa de ITGAV humana, ej., que comprende la secuencia de la SEC ID NO: 77, y una subunidad beta de ITGB8 humana, ej., que comprende la secuencia de la SEC ID NO: 78. Una "integrina $\alpha\beta 8$ murina" o "integrina $\alpha\beta 8$ de ratón", como se usa en este documento, generalmente se refiere a una integrina $\alpha\beta 8$, ej., que comprende una subunidad alfa de ITGAV murina, ej., que comprende la secuencia de la SEC ID NO: 79, y una subunidad beta de ITGB8 murina, ej., que comprende la secuencia de la SEC ID NO: 80. El término integrina $\alpha\beta 8$ incluye típicamente homólogos y ortólogos de la integrina $\alpha\beta 8$, que incluyen, pero no se limitan a, humanos, monos *cinomolgos*, ratas, conejos y ratones. Como se usa en este documento, "integrina $\alpha\beta 8$ " se refiere típicamente a una integrina $\alpha\beta 8$ de mamífero, ej., integrina $\alpha\beta 8$ humana, de rata, de ratón, de primates no humanos, bovina, ovina o porcina (ej., que comprende una subunidad de integrina alfa-V y una subunidad de integrina beta 8 de ser humano, rata, ratón, primate no humano, bovino, ovino o porcino, respectivamente). Ejemplos no limitantes de subunidades de integrina alfa-V incluyen integrina $\alpha\beta 8$ de humano (véase, ej., el Número de Acceso Genbank P06756.2, SEC ID NO: 77), de mono *cynomolgus* (véase, ej., SEC ID NO: 84) y de ratón (véase, ej., SEC ID NO: 79). Los ejemplos no limitantes de subunidades de integrina beta 8 incluyen integrina $\alpha\beta 8$ de humano (véase, ej., el Número de Acceso Genbank P26012.1, SEC ID NO: 78), de mono *cynomolgus* (véase, ej., SEC ID NO: 85) y de ratón (véase, ej., SEC ID NO: 80). El término "integrina $\alpha\beta 8$ " también incluye fragmentos, variantes, isoformas y otros homólogos de tales moléculas de subunidad de integrina $\alpha\beta 8$. Las moléculas de integrina $\alpha\beta 8$ variantes generalmente se caracterizarán por tener el mismo tipo de actividad que la integrina $\alpha\beta 8$ de origen natural como la capacidad para unirse a un ligando de integrina $\alpha\beta 8$, ej., como se describe en el presente documento, la capacidad para inducir la actividad mediada por el receptor, y la capacidad para unirse, o no, al anticuerpo, o fragmento de antígeno del mismo, de la invención.

Se conocen en la técnica secuencias de aminoácidos y nucleótidos de ejemplo para TGF β y LAP. Por ejemplo, un polipéptido precursor que comprende TGF β 1 y LAP (ej., secuencia humana UniProt número de acceso P01137) se procesa de manera postraducciona en aproximadamente los aminoácidos 30-278 de UniProt número de

acceso P01137 correspondiente a LAP y aproximadamente los aminoácidos 279-390 de UniProt número de acceso P01137 correspondiente al TGFβ1 humano. De manera similar, un polipéptido precursor que comprende TGFβ3 y LAP (ej., secuencia humana UniProt número de acceso P10600) se procesa de manera postraduccional en
5 aproximadamente los aminoácidos 24-300 de UniProt número de acceso P10600 correspondientes a LAP y aproximadamente los aminoácidos 301-412 de UniProt número de acceso 10600 correspondiente a TGFβ3 humano.

La integrina αvβ8 puede comprender uno o más, dos o más, tres o más, cuatro o más, cinco o más, seis o más, siete o más, ocho o más, nueve o más, diez o más, doce
10 o más o quince o más residuos accesibles a la superficie de la integrina αvβ8. La molécula objetivo puede comprender un epítipo conocido de la integrina αvβ8.

Como se describe en otra parte del presente documento, se pueden alterar ciertas posiciones de la molécula de anticuerpo. Por "posición" como se usa en este documento se entiende una ubicación en la secuencia de una proteína. Las posiciones
15 pueden numerarse secuencialmente, o de acuerdo con un formato establecido, por ejemplo, el índice de EU y el índice de Kabat se pueden usar para numerar los residuos de aminoácidos de un anticuerpo. Por ejemplo, la posición 297 es una posición en el anticuerpo humano IgG1. Las posiciones correspondientes se determinan como se describe anteriormente, generalmente a través de la alineación con otras secuencias
20 precursoras.

Por "residuo" como se usa en el presente documento se entiende una posición en una proteína y su identidad de aminoácidos asociada. Por ejemplo, Asparagina 297 (también denominada Asn297, también denominada N297) es un residuo en el anticuerpo humano IgG1.

Como se conoce en la técnica, "polinucleótido" o "ácido nucleico", como se usa indistintamente en el presente documento, se refiere a cadenas de nucleótidos de cualquier longitud, e incluye ADN y ARN. Los nucleótidos pueden ser desoxirribonucleótidos, ribonucleótidos, nucleótidos o bases modificados, y/o sus
25 análogos, o cualquier sustrato que pueda incorporarse en una cadena mediante ADN o ARN polimerasa. Un polinucleótido puede comprender nucleótidos modificados, tales como nucleótidos metilados y sus análogos. Si está presente, la modificación de la estructura del nucleótido puede impartirse antes o después del ensamblaje de la cadena. La secuencia de nucleótidos puede estar interrumpida por componentes no
30 nucleótidos. Un polinucleótido puede modificarse adicionalmente después de la

polimerización, tal como por conjugación con un componente de etiquetado. Otros tipos de modificaciones incluyen, por ejemplo, "caps", la sustitución de uno o más de los nucleótidos de origen natural con un análogo, modificaciones internucleótidas como, por ejemplo, aquellas con enlaces no cargados (*ej.*, fosfonatos de metilo, fosfotriésteres, fosfoamidatos, carbamatos, etc.) y con enlaces cargados (*ej.*, fosforotioatos, fosforoditioatos, etc.), aquellos que contienen fracciones colgantes, tales como, por ejemplo, proteínas (*ej.*, nucleasas, toxinas, anticuerpos, péptidos de señal, poli-L-lisina, etc.), aquellos con intercaladores (*ej.*, acridina, psoraleno, etc.), aquellos que contienen quelantes (*ej.*, metales, metales radiactivos, boro, metales oxidativos, etc.), aquellos que contienen alquiladores, aquellos con enlaces modificados (*ej.*, ácidos nucleicos alfa anoméricos, etc.), así como formas no modificadas del polinucleótido. Además, cualquiera de los grupos hidroxilo presentes en los azúcares puede ser reemplazado, por ejemplo, por grupos fosfonato, grupos fosfato, protegidos mediante grupos protectores estándar, o activados para preparar enlaces adicionales a nucleótidos adicionales, o pueden conjugarse con soportes sólidos. El extremo OH terminal 5' y 3' puede estar fosforilado o sustituido por aminas o fracciones de grupos protectores orgánicos de 1 a 20 átomos de carbono. Otros hidroxilos también pueden derivarse a grupos protectores estándar. Los polinucleótidos también pueden contener formas análogas de azúcares de ribosa o desoxirribosa que se conocen generalmente en la técnica, incluyendo, por ejemplo, 2'-O-metil-, 2'-O-alilo, 2'-fluoro- o 2'-azido-Ribosa, análogos de azúcares carbocíclicos, azúcares alfa o beta-anoméricos, azúcares epiméricos tales como arabinosa, xilosas o lixosas, azúcares de piranosa, azúcares de furanosa, sedoheptulosas, análogos acíclicos y análogos nucleósidos abásicos tales como metil ribósido. Uno o más enlaces fosfodiéster pueden reemplazarse por grupos de enlace alternativos. Estos grupos de enlace alternativos incluyen, pero no se limitan a, modalidades en donde el fosfato se reemplaza por P (O) S ("tioato"), P (S) S ("ditioato"), (O)NR₂ ("Amidato"), P(O)R, P(O)OR', CO o CH₂ (Formacetal"), en la que cada R o R' es independientemente H o alquilo (1-20 C) sustituido o no sustituido que contiene opcionalmente un enlace éter (-O-), arilo, alquenilo, cicloalquilo, cicloalquenilo o araldilo. No todos los enlaces en un polinucleótido necesitan ser idénticos. La descripción anterior se aplica a todos los polinucleótidos a los que se hace referencia en el presente documento, incluidos el ARN y ADN.

Como se usa en el presente documento, "vector" significa un constructo, que es capaz de entregar, y, preferiblemente, expresar, uno o más genes o secuencias de interés en una célula huésped. Los ejemplos de vectores incluyen, pero no se limitan a, vectores virales, vectores de expresión de ADN o ARN desnudo, plásmidos, vectores de cósmidos o fagos, vectores de expresión de ADN o ARN asociados con agentes de condensación catiónicos, vectores de expresión de ADN o ARN encapsulados en liposomas, y ciertas células eucariotas, tales como células productoras.

Una "célula huésped" incluye una célula individual o cultivo celular que puede ser o ha sido un receptor de vectores para la incorporación de inserciones de polinucleótidos. Las células huésped incluyen la progenie de una única célula huésped, y la progenie puede no ser necesariamente completamente idéntica (en morfología o en el complemento de ADN genómico) a la célula precursora original debido a una mutación natural, accidental o deliberada. Una célula huésped incluye células transfectadas y/o transformadas *in vivo* con un polinucleótido de esta invención.

Las células huésped pueden ser células procariotas o células eucariotas. Las células eucariotas de ejemplo incluyen células de mamífero, tales como células animales primates o no primates; células fúngicas, tales como levadura; células vegetales; y células de insectos.

De acuerdo con la presente invención, puede utilizarse cualquier célula huésped susceptible al cultivo celular y a la expresión de proteínas o polipéptidos. En ciertas modalidades, la célula huésped es mamífera. Las líneas celulares mamíferas disponibles como huéspedes para la expresión son bien conocidas en la técnica e incluyen muchas líneas celulares inmortalizadas disponibles de la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC). Las células mamíferas de ejemplo no limitativas incluyen, pero no se limitan a, células NS0, células HEK 293 y células de ovario de hámster chino (CHO), y sus derivados, tales como células 293-6E y CHO DG44, células CHO DXB11 y Potelligent® CHOK1SV (BioWa / Lonza, Allendale, NJ). Las células huésped mamíferas también incluyen, pero no se limitan a, células de carcinoma cervical humano (HeLa, ATCC CCL 2), células de riñón de hámster (BHK, ATCC CCL 10), células de riñón de mono (COS) y células de carcinoma hepatocelular humano (*ej.*, Hep G2). Otros ejemplos no limitativos de células mamíferas que pueden usarse de acuerdo con la presente invención incluyen retinoblastos humanos (PER.C6®; CruCell, Leiden, Países Bajos); línea CV1 de riñón de mono transformada por SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651); línea de riñón embrionario humano 293 (HEK 293) o 293 células subclonadas

para el crecimiento en cultivo en suspensión (Graham, 1977, J. Gen Virol. 36:59); células de sertoli de ratón (TM4, Mather, 1980, Biol. Reprod. 23: 243-251); células de riñón de mono (CV1 ATCC CCL 70); células de riñón de mono verde africano (VERO-76, ATCC CRL-1 587); células renales caninas (MDCK, ATCC CCL 34); células de hígado de rata búfalo (BRL 3A, ATCC CRL 1442); células pulmonares humanas (W138, ATCC CCL 75); células hepáticas humanas (Hep G2, HB 8065); tumor mamario de ratón (MMT 060562, ATCC CCL51); Células TR1 (Mather, 1982, Annals N.Y. Acad. Sci. 383: 44-68); células MRC 5; células FS4; una línea de hepatoma humano (Hep G2); y numerosas líneas celulares de mieloma, que incluyen, sin limitarse a, la línea de mieloma de ratón BALB/c (NS0/1, No. ECACC: 85110503), células NS0 y células Sp2/0.

Además, de acuerdo con la presente se puede utilizar cualquier número de líneas celulares comercialmente y no comercialmente disponibles que expresen polipéptidos o proteínas. Un experto en la técnica apreciará que diferentes líneas celulares podrían tener diferentes requisitos de nutrición y/o podrían requerir diferentes condiciones de cultivo para un crecimiento y una expresión de polipéptidos o proteínas óptimo, y podrán modificar las condiciones según sea necesario.

La invención incluye cualquier sistema de expresión eucariótico conocido en la técnica o descrito en el presente documento para la producción de proteínas de interés, tal como la expresión en un sistema de células de insecto, un sistema de expresión de levadura o un sistema de células mamíferas, tal como, pero sin limitación a, células CHO.

Como se usa en este documento, "secuencia de control de expresión" se refiere a una secuencia de ácido nucleico que dirige la transcripción de un ácido nucleico. Una secuencia de control de expresión puede ser un promotor, tal como un promotor constitutivo o inducible, o un potenciador. La secuencia de control de expresión está unida operativamente a la secuencia de ácido nucleico a transcribir.

Por el término "péptido líder" o "secuencia líder" o "secuencia de señal líder" o "secuencia de señal", como se usa indistintamente en el presente documento, se refiere a cualquier secuencia de ácido nucleico, o secuencia de aminoácidos codificada por la misma, que puede estar presente en el extremo 5' de una molécula de ácido nucleico y/o en o cerca del extremo N terminal de un polipéptido, que cuando está presente puede mediar el transporte del polipéptido a un orgánulo de destino, incluyendo, pero no limitado a, la secreción del polipéptido de una célula. Tales secuencias líder

incluyen, pero no se limitan a, secuencias de ácido nucleico que comprenden, ej., ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACAGGCGTGCACTC C (SEC ID NO: 187), y secuencias de aminoácidos codificadas por el mismo, tales como, pero sin limitarse a, MGWSCILFLVATATGVHS (SEC ID NO: 188). La invención abarca estas y otras señales líder (secuencias nucleicas y de aminoácidos) conocidas en la técnica o por identificar que pueden resultar en el transporte de un polipéptido al orgánulo deseado, ej., el retículo endoplásmico y/o secretarse a partir de la célula. Generalmente, el péptido de señal se elimina de y/o no está presente en el polipéptido maduro.

Como se usa en este documento, "tratamiento" es un enfoque para obtener resultados clínicos beneficiosos o deseados. Para los fines de esta invención, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero no se limitan a, uno o más de los siguientes: mejora en la tasa de supervivencia (mortalidad reducida), reducción en la respuesta inflamatoria a la enfermedad, reducción en la cantidad de fibrosis tisular, mejora en la apariencia de lesiones de la enfermedad, limitación de lesiones patológicas a sitios focales, disminución del daño causado por la enfermedad, disminución de la duración de la enfermedad y/o reducción en el número, extensión o duración de los síntomas relacionados con la enfermedad. El término incluye la administración de los compuestos o agentes de la presente invención para prevenir o retrasar la aparición de los síntomas, complicaciones o signos bioquímicos de una enfermedad, aliviar los síntomas o detener o inhibir el desarrollo adicional de la enfermedad, afección o trastorno. El tratamiento puede ser profiláctico (para prevenir o retrasar la aparición de la enfermedad, o para prevenir la manifestación de los síntomas clínicos o subclínicos de la misma) o de supresión terapéutica o de alivio de síntomas después de la manifestación de la enfermedad. En algunas modalidades, la enfermedad, afección o trastorno es un cáncer.

Tal como se utiliza en la presente, el término "cáncer" se entiende que incluye todos los tipos de crecimientos cancerosos o procesos oncogénicos, tejidos metastásicos o células transformadas malignamente, tejidos u órganos, independientemente del tipo histopatológico o la etapa de invasividad. Ejemplos de trastornos cancerosos incluyen, pero no se limitan a, tumores sólidos, cánceres hematológicos, tumores de tejidos blandos y lesiones metastásicas. Ejemplos de tumores sólidos incluyen tumores malignos, ej., sarcomas y carcinomas (incluyendo adenocarcinomas y carcinomas de células escamosas), de los diversos sistemas de

órganos, tales como los que afectan el hígado, pulmón, mama, sistema linfático, sistema gastrointestinal (ej., colon), tracto genitourinario (ej., células renales, uroteliales), próstata y faringe. Los adenocarcinomas incluyen tumores malignos tales como la mayoría de cánceres de colon, cáncer rectal, carcinoma de células renales, cáncer de hígado, carcinoma de células no pequeñas del pulmón, cáncer del intestino delgado y cáncer del esófago. Los carcinomas de células escamosas incluyen tumores malignos, ej., en la región del pulmón, esófago, piel, cabeza y cuello, cavidad oral, el ano y el cuello uterino. En una modalidad, el cáncer es un melanoma, ej., un melanoma en etapa avanzada. Las lesiones metastásicas de los cánceres anteriormente mencionados también pueden tratarse usando los métodos y composiciones de la invención. Los cánceres de ejemplo cuyo crecimiento puede tratarse, ej., reducirse, usando las moléculas de anticuerpos descritas en este documento incluyen cánceres que responden típicamente a la inmunoterapia.

"Mejoramiento" significa una disminución o mejora de uno o más síntomas en comparación con no administrar un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta8$. "Aliviar" también incluye acortar o reducir la duración de un síntoma.

Como se usa en el presente documento, una "dosis efectiva" o "cantidad efectiva" de fármaco, compuesto o composición farmacéutica es una cantidad suficiente para afectar a uno o más de los resultados beneficiosos o deseados. En aspectos más específicos, una cantidad efectiva previene, alivia o mejora los síntomas de una enfermedad, ej., un cáncer, y/o prolonga la supervivencia del sujeto que está siendo tratado. Para uso profiláctico, los resultados beneficiosos o deseados incluyen eliminar o reducir el riesgo, disminuir la gravedad o retrasar el inicio de la enfermedad, que incluye los síntomas bioquímicos, histológicos y/o conductuales de la enfermedad, sus complicaciones y fenotipos patológicos intermedios que se presentan durante el desarrollo de la enfermedad. Para uso terapéutico, los resultados beneficiosos o deseados incluyen resultados clínicos tales como reducir uno o más síntomas de una enfermedad mediada por integrina $\alpha\beta8$, trastorno o afección, disminuir la dosis de otros medicamentos necesarios para tratar la enfermedad, aumentar el efecto de otro medicamento y/o retrasar la progresión de la enfermedad de los pacientes. Se puede administrar una dosis efectiva en una o más administraciones. Para los fines de esta invención, una dosis eficaz de fármaco, compuesto o composición farmacéutica es una cantidad suficiente para llevar a cabo un tratamiento profiláctico o terapéutico directa o indirectamente. Como se entiende en el contexto clínico, una dosis efectiva de un

fármaco, compuesto o composición farmacéutica puede o no lograrse junto con otro fármaco, compuesto o composición farmacéutica. Por lo tanto, se puede considerar una "dosis efectiva" en el contexto de administrar uno o más agentes terapéuticos, y se puede considerar que un solo agente se administra en una cantidad efectiva si, junto con uno o más agentes, puede lograrse un resultado deseable.

Los anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, se pueden administrar en combinación con una o más terapias (ej., conocida en el presente documento como una "segunda terapia"). Por "en combinación con", no se pretende dar a entender que la terapia o los agentes terapéuticos deben ser administrados al mismo tiempo y/o formulados para la entrega juntos, aunque estos métodos de entrega están dentro del alcance descrito en la presente. Los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, se pueden administrar simultáneamente con, antes o después de, una o más terapias u otros agentes terapéuticos. Los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$, o fragmentos de unión a antígeno del mismo, y la segunda terapia, ej., otro agente o protocolo terapéutico, pueden administrarse en cualquier orden. En general, cada agente será administrado a una dosis y/o en un esquema de tiempo determinado para ese agente. Además, se apreciará que el agente terapéutico adicional utilizado en esta combinación puede administrarse junto en una composición única o administrarse por separado en diferentes composiciones. En algunas modalidades, los niveles utilizados en combinación serán más bajos que los utilizados individualmente.

Una "combinación sinérgica" o una combinación que actúa "sinérgicamente", es una combinación que exhibe efectos aumentados que no están previstos en comparación con un efecto meramente aditivo de las terapias individuales combinadas.

Un "individuo" o un "sujeto" es un mamífero, más preferiblemente, un ser humano. Los mamíferos también incluyen, pero no se limitan a, animales de granja (ej., vacas, cerdos, caballos, pollos, etc.), animales deportivos, mascotas, primates, caballos, perros, gatos, ratones y ratas. En algunas modalidades, el individuo está en riesgo de padecer una enfermedad, trastorno o afección mediada por o asociada con la unión de la integrina $\alpha\beta 8$ a su receptor y la señalización mediada por el mismo. En modalidades determinadas, el sujeto padece un trastorno o afección como se describe en este documento, ej., un cáncer.

Como se usa en este documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" o "excipiente farmacéuticamente aceptable" incluye cualquier material que, cuando se

combina con un ingrediente activo, permite que el ingrediente retenga actividad biológica y no sea reactivo con el sistema inmune del sujeto. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de los vehículos farmacéuticos estándar tales como una solución salina tamponada con fosfato, agua, emulsiones tales como emulsión de aceite/agua y diversos tipos de agentes humectantes. Los diluyentes preferidos para administración en aerosol o parenteral son solución salina tamponada con fosfato (PBS) o solución salina normal (0,9%). Las composiciones que comprenden tales vehículos se formulan mediante métodos convencionales conocidos (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18^a edición, A. Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990; y Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed. Mack Publishing, 2000).

Ejemplos de métodos y materiales se describen en el presente documento, aunque los métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en este documento también pueden usarse en la práctica o prueba de la presente invención.

Los materiales, métodos y ejemplos son sólo ilustrativos y no pretenden ser limitantes.

II. ANTICUERPOS DE INTEGRINA ANTI-AVB8

La presente invención se refiere a anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se unen a la integrina $\alpha\beta 8$. Preferiblemente, los anticuerpos se unen específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$, es decir, se unen a la integrina $\alpha\beta 8$ pero no se unen de forma detectable, o se unen con menor afinidad, a otras integrinas $\alpha\gamma$ (ej., integrina $\alpha\beta 3$, integrina $\alpha\beta 5$ e integrina $\alpha\beta 6$). La invención se refiere además a anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$ que exhiben una función efectora alterada. En algunas modalidades, la función efectora alterada es ADCC incrementada. En algunas modalidades, la función efectora alterada es CDC disminuida. La invención también se refiere a composiciones que comprenden tales anticuerpos, así como a usos para tales anticuerpos, que incluyen usos terapéuticos y farmacéuticos.

En una modalidad, la divulgación proporciona cualquiera de los siguientes, o composiciones (incluidas las composiciones farmacéuticas) que comprenden un anticuerpo que tiene una secuencia de cadena ligera, o un fragmento de la misma, y una cadena pesada, o un fragmento de la misma, derivada de, pero no idéntica a, el anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 (también denominado ADWA11, mADWA11, mADWA-11), como se describe en la Patente EE.UU. No. 9,969,804, que

se incorpora aquí como referencia en su totalidad, y como se establece en, ej., la SEC ID NO: 20-33 y 71-76 de la presente descripción.

Los anticuerpos útiles en la presente invención pueden abarcar anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, fragmentos de anticuerpos (ej., Fab, Fab', F (ab')₂, Fv, Fc, etc.), anticuerpos quiméricos, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos heteroconjugados, cadenas sencillas (ScFv), mutantes de los mismos, proteínas de fusión que comprenden un fragmento de anticuerpo (ej., un anticuerpo de dominio), anticuerpos humanizados y cualquier otra configuración modificada de la molécula de inmunoglobulina que comprende un sitio de reconocimiento de antígeno de la especificidad requerida, incluidas las variantes de glucosilación de anticuerpos, variantes de secuencia de aminoácidos de anticuerpos y anticuerpos modificados covalentemente. Los anticuerpos pueden ser de origen murino, de rata, humano o de cualquier otro origen (incluidos los anticuerpos quiméricos o humanizados). En algunas modalidades, el anticuerpo de integrina anti- $\alpha v \beta 8$ es un anticuerpo monoclonal. En algunas modalidades, el anticuerpo de integrina anti- $\alpha v \beta 8$ es un anticuerpo humano o humanizado. En algunas modalidades, el anticuerpo de integrina anti- $\alpha v \beta 8$ es un anticuerpo quimérico.

Los anticuerpos de integrina anti- $\alpha v \beta 8$ de la invención se pueden preparar mediante cualquier método conocido en la técnica. Las técnicas generales para la producción de anticuerpos de humano y de ratón son conocidas en la técnica y/o se describen en este documento.

Seguido de la identificación inicial, la actividad de un anticuerpo candidato de integrina anti- $\alpha v \beta 8$ se puede confirmar y refinar adicionalmente mediante bioensayos, conocidos por probar las actividades biológicas dirigidas. En algunas modalidades, se usa un ensayo celular *in vitro* para caracterizar adicionalmente un anticuerpo candidato de integrina anti- $\alpha v \beta 8$. Por ejemplo, los bioensayos se pueden utilizar para seleccionar candidatos directamente. Algunos de los métodos para identificar y caracterizar un anticuerpo de integrina anti- $\alpha v \beta 8$ se describen en detalle en los Ejemplos.

La Tabla 1 a continuación es un resumen de las secuencias de aminoácidos y nucleótidos para los anticuerpos de integrina anti- $\alpha v \beta 8$ murinos, quiméricos y humanizados, ej., como se describe en el presente documento. Las secuencias de aminoácidos y nucleótidos de las CDRs de cadena pesada y ligera, las secuencias de aminoácidos y nucleótidos de las regiones variables de cadena pesada y ligera, y las secuencias de aminoácidos y nucleótidos de las cadenas pesadas y ligeras se

muestran en esta Tabla. Generalmente, a menos que se indique específicamente, los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$ de la invención pueden incluir cualquier combinación de una o más CDR de Kabat y/o bucles hipervariables de Chothia como se establece en la Tabla 1. En algunas modalidades, los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$ de la invención pueden incluir cualquier combinación de una o más secuencias de VH y/o VL como se establece en la Tabla 1. En algunas modalidades, los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$ de la invención pueden incluir cualquier combinación de una o más regiones marco (ej., FR1, FR2, FR3 y FR4) como se describe en la Tabla 1. Puede entenderse en general, y como se indica en la Tabla 1, cada secuencia VH y VL típicamente incluye tres CDR y cuatro FR, ordenadas desde el extremo amino al extremo carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

En algunas modalidades, donde un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta 8$ comprende un residuo de aminoácido de lisina (K) de extremo C-terminal en un polipéptido de cadena pesada (ej., la cadena pesada de IgG1 humana comprende un extremo de lisina), un experto en la técnica entendería que el residuo de lisina puede recortarse dando como resultado un anticuerpo con una cadena pesada que carece del residuo de lisina de extremo C-terminal. Además, la cadena pesada del anticuerpo se puede producir usando un ácido nucleico que no codifica la lisina. Por tanto, en algunas modalidades, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta 8$ comprende una cadena pesada en donde el extremo de lisina de un modo presente no está presente.

Tabla 1: Secuencias de aminoácidos y nucleótidos para anticuerpos de integrina $\alpha\beta 8$ y otros péptidos.

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
ADWA11 2.4 VL Secuencia de aminoácidos VL Los residuos de aminoácidos subrayados son las secuencias de CDR según Kabat (también conocidas como ADWA11_VK01_2.4)	7	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLSHFNGN TYLFWYQQKPGKAPKRLIYYMSSLASGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSLEYPTFG GGTKVEIK

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
ADWA11 2.4 CDR-L1 según Kabat	11	RSTKSLSHFNGNTYLF
ADWA11 2.4 CDR-L2 según Kabat	12	YYMSSLAS
ADWA11 2.4 CDR-L3 según Kabat	13	QQSLEYPFT
ADWA11 2.4 CDR-L1 según Chothia	17	STKSLSHFNGNTYL
ADWA11 2.4 CDR-L2 según Chothia	18	YYMSS
ADWA11 2.4 CDR-L3 según Chothia	19	QSLEYPFT
ADWA11 2.4 VH Secuencia de aminoácidos VH Los residuos de aminoácidos subrayados son las secuencias de CDR según Kabat	6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK <u>DYYM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWVGWIDPDQGNTIYEPKFQGR</u> FTISADTSKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCARR <u>LL</u> <u>MDYWGQGTLVTVSS</u>
ADWA11 2.4 CDR-H1 según Kabat	8	DYYMN
ADWA11 2.4 CDR-H2 según Kabat	9	WIDPDQGNTIYEPKFQG
ADWA11 2.4 CDR-H3 según Kabat	10	RLLMDY
ADWA11 2.4 CDR-H1 según Chothia	14	GFNIKDYYMN
ADWA11 2.4 CDR-H2 según Chothia	15	WIDPDQGN
ADWA11 2.4 CDR-H3 según Chothia	16	RLLMDY

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
ADWA11 2.4 Secuencia de aminoácidos de cadena ligera (LC) La secuencia VL está subrayada	5	<u>DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSTKSLSHFNGN</u> <u>TYLFWYQQKPGKAPKRLIYYMSSLASGVPSRFSG</u> <u>SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSLEYPTFG</u> <u>GGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC</u> LLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
ADWA11 2.4 Secuencia de aminoácidos de cadena pesada (HC) La secuencia VH está subrayada	2	<u>EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIDYIM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWVGWIDPDQGNITIEPKFQGR</u> <u>FTISADTSKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRLL</u> <u>MDYWGGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS</u> GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHREALHNHYTQKSLS LSPGK

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
ADWA11 2.4 Secuencia de aminoácidos de cadena pesada sin residuo de lisina terminal La secuencia VH está subrayada	3	<u>EVQLVESGGGLVQP</u> <u>GGSLRLSCAAS</u> <u>GFNIKDYYM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWVGWIDPDQGN</u> <u>TIYEPKFQGR</u> <u>FTISADTSKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRLL</u> <u>MDYWGGGTLVTVSS</u> <u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTS</u> GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQKSLS LSPG

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
ADWA11 2.4 Secuencia de ADN de cadena ligera Los residuos de ácido nucleico que codifican VL están subrayados. Los residuos de ácido nucleico que codifican el líder están en minúsculas	4	atgggatggagctgtatcatcctcttcttgtagcaacagctacagggc tgactcc <u>GACATCCAGATGACCCAGTCCCCTTCC</u> <u>AGCCTGAGCGCTTCCGTGGGCGACAGGGTGAC</u> <u>CATCACCTGCAGGTCCACCAAGTCCCTGTCCCA</u> <u>CTTCAACGGCAACACCTACCTGTTCTGGTACCA</u> <u>GCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGAGGCTGA</u> <u>TCTACTACATGTCCTCCCTGGCCTCCGGAGTGC</u> <u>CCTCCAGGTTCTCCGGATCCGGCTCCGGCACC</u> <u>GACTTCACCCTGACCATCTCCTCCCTGCAGCCC</u> <u>GAGGATTTGCCCACCTACTACTGCCAGCAGTCC</u> <u>CTGGAGTACCCCTTCACCTTCGGCGGGCGGCAC</u> <u>CAAGGTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCAC</u> CATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGC AGTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGTGCC TGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAG TACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCG GGTAACTCCCAGGAGAGTGTACACAGAGCAGGA CAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCA CCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAA CACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAG GGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAA CAGGGGAGAGTGT

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
ADWA11 2.4 Secuencia de ADN de cadena ligera Los residuos de ácido nucleico que codifican VL están subrayados.	185	<u>GACATCCAGATGACCCAGTCCCCTTCCAGCCTG</u> <u>AGCGCTTCCGTGGGCGACAGGGTGACCATCAC</u> <u>CTGCAGGTCCACCAAGTCCCTGTCCCCTTCAA</u> <u>CGGCAACACCTACCTGTTCTGGTACCAGCAGAA</u> <u>GCCCCGGAAGGCCCCCAAGAGGCTGATCTACT</u> <u>ACATGTCCTCCCTGGCCTCCGGAGTGCCCTCC</u> <u>AGGTTCTCCGGATCCGGCTCCGGCACCGACTT</u> <u>CACCCTGACCATCTCCTCCCTGCAGCCCGAGG</u> <u>ATTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTCCCTGG</u> <u>AGTACCCCTTCACCTTCGGCGGGCGGCACCAAG</u> <u>GTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCT</u> GTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTG AAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTG AATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAG TGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAA CTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTG ACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAA GTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCT GAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGG GAGAGTGT
ADWA11 2.4 Secuencia de ADN VL	186	GACATCCAGATGACCCAGTCCCCTTCCAGCCTG AGCGCTTCCGTGGGCGACAGGGTGACCATCAC CTGCAGGTCCACCAAGTCCCTGTCCCCTTCAA CGGCAACACCTACCTGTTCTGGTACCAGCAGAA GCCCCGGAAGGCCCCCAAGAGGCTGATCTACT ACATGTCCTCCCTGGCCTCCGGAGTGCCCTCC AGGTTCTCCGGATCCGGCTCCGGCACCGACTT CACCCTGACCATCTCCTCCCTGCAGCCCGAGG ATTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTCCCTGG AGTACCCCTTCACCTTCGGCGGGCGGCACCAAG GTGGAGATCAAA

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
ADWA11 2.4 Secuencia de ADN líder de cadena ligera y cadena pesada	187	ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTA GCAACAGCTACAGGCGTGCACTCC
ADWA11 2.4 Secuencia de aminoácidos líder de cadena ligera y cadena pesada	188	MGWSCIILFLVATATGVHS

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
ADWA11 2.4 Secuencia de ADN de cadena pesada (con lisina terminal) Los residuos de ácido nucleico que codifican VH están subrayados. Los residuos de ácido nucleico que codifican el líder están en minúsculas	1	atgggatggagctgtatcatcctcttcttggttagcaacagctacaggcg tgcactcc <u>GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGG</u> <u>AGGCCTGGTGCAGCCTGGAGGAAGCCTGAGGC</u> <u>TGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCAACATCAAG</u> <u>GACTACTACATGAACTGGGTGAGGCAGGCCCC</u> <u>TGGCAAAGGACTGGAGTGGGTGGGCTGGATCG</u> <u>ACCCCGACCAGGGCAACACCATCTACGAGCCC</u> <u>AAGTTCCAGGGCAGGTTACCATCAGCGCCGA</u> <u>CACCAGCAAGAACAGCGCCTACCTGCAGATGA</u> <u>ACTCCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAC</u> <u>TACTGCGCCAGGAGGCTGCTGATGGACTACTG</u> <u>GGGCCAGGGCACACTGGTCACCGTCTCCTCAG</u> CCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTG GCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCAC AGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCA GGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCC GGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCT CAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCT TGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATC ACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAA GTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACA TGCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGCTGG GGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAACC CAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTG AGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAC GAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACC GTGTGGTCAGCGTCCTACCGTCCTGCACCAG GACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAA GGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCG AGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATC CCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCC TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGT GCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAG

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
ADWA11 2.4 Secuencia de ADN de cadena pesada (con lisina terminal) Los residuos de ácido nucleico que codifican VH están subrayados.	189	<u>GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGCC</u> <u>TGGTGCAGCCTGGAGGAAGCCTGAGGCTGAGC</u> <u>TGTGCCGCCAGCGGCTTCAACATCAAGGACTA</u> <u>CTACATGAACTGGGTGAGGCAGGCCCTGGCA</u> <u>AAGGACTGGAGTGGGTGGGCTGGATCGACCCC</u> <u>GACCAGGGCAACACCATCTACGAGCCCAAGTT</u> <u>CCAGGGCAGGTTCAACATCAGCGCCGACACCA</u> <u>GCAAGAACAGCGCCTACCTGCAGATGAACTCC</u> <u>CTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTG</u> <u>CGCCAGGAGGCTGCTGATGGACTACTGGGGCC</u> <u>AGGGCACACTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCC</u> <u>ACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACC</u> <u>CTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGG</u> <u>CCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC</u> <u>GAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGC</u> <u>CCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTG</u> <u>TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA</u> <u>GCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGC</u> <u>ACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAG</u> <u>CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGA</u> <u>GCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCC</u> <u>ACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGCTGGGGGCAC</u> <u>CGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCTCAAGG</u> <u>ACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCA</u> <u>CATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC</u> <u>CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGG</u> <u>CGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGC</u> <u>GGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTG</u> <u>GTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG</u> <u>GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT</u> <u>CCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAA</u> <u>ACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA</u> <u>ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGG</u> <u>AGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACC</u> <u>TGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATC</u> <u>GCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG</u> <u>AGAACA</u> <u>ACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTG</u> <u>GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAG</u> <u>CTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGG</u> <u>GAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGC</u>

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
ADWA11 2.4 Secuencia de ADN de VH	190	GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGCC TGGTGCAGCCTGGAGGAAGCCTGAGGCTGAGC TGTGCCGCCAGCGGCTTCAACATCAAGGACTA CTACATGAACTGGGTGAGGCAGGCCCTGGCA AAGGACTGGAGTGGGTGGGCTGGATCGACCCC GACCAGGGCAACACCATCTACGAGCCCAAGTT CCAGGGCAGGTTCCACCATCAGCGCCGACACCA GCAAGAACAGCGCCTACCTGCAGATGAACTCC CTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTG CGCCAGGAGGCTGCTGATGGACTACTGGGGCC AGGGCACACTGGTCACCGTCTCCTCA

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
ADWA11 2.4 Secuencia de ADN de cadena pesada Ácido nucleico sin lisina terminal, los residuos que codifican VH están subrayados Los residuos de ácido nucleico que codifican el líder están en minúsculas	183	atgggatggagctgtatcatcctcttcttgtagcaacagctacagggc tgcactcc <u>GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGG</u> <u>AGGCCTGGTGCAGCCTGGAGGAAGCCTGAGGC</u> <u>TGAGCTGTGCCGCCAGCGGCTTCAACATCAAG</u> <u>GACTACTACATGAACTGGGTGAGGCAGGCCCC</u> <u>TGGCAAAGGACTGGAGTGGGTGGGCTGGATCG</u> <u>ACCCCGACCAGGGCAACACCATCTACGAGCCC</u> <u>AAGTTCCAGGGCAGGTTCAACATCAGCGCCGA</u> <u>CACCAGCAAGAACAGCGCCTACCTGCAGATGA</u> <u>ACTCCCTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTAC</u> <u>TACTGCGCCAGGAGGCTGCTGATGGACTACTG</u> <u>GGGCCAGGGGCACACTGGTCACCGTCTCCTCAG</u> CCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTG GCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCAC AGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCA GGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCC GGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCT CAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCT TGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATC ACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAA GTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAACTCACACA TGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCCGCTGG GGCACCGTCAGTCTTCTTCCCCCCTTCAAC CAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTG AGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAC GAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTG GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAA GCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACC GTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAG GACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAA GGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCG AGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCC CGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATC CCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCC TGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCG ACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAG CCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGT GCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAG CAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
ADWA11 2.4 Secuencia de ADN de cadena pesada Ácido nucleico sin lisina terminal, los residuos que codifican VH están subrayados	191	<u>GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGCC</u> <u>TGGTGCAGCCTGGAGGAAGCCTGAGGCTGAGC</u> <u>TGTGCCGCCAGCGGCTTCAACATCAAGGACTA</u> <u>CTACATGAACTGGGTGAGGCAGGCCCTGGCA</u> <u>AAGGACTGGAGTGGGTGGGCTGGATCGACCCC</u> <u>GACCAGGGCAACACCATCTACGAGCCCAAGTT</u> <u>CCAGGGCAGGTTCACCATCAGCGCCGACACCA</u> <u>GCAAGAACAGCGCCTACCTGCAGATGAACTCC</u> <u>CTGAGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTG</u> <u>CGCCAGGAGGCTGCTGATGGACTACTGGGGCC</u> <u>AGGGCACACTGGTCACCGTCTCCTCAGCCTCC</u> ACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACC CTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGG CCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC GAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGC CCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTG TCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCA GCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGC ACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAG CCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGA GCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCC ACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGCTGGGGGCAC CGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCTCAACCAAGG ACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCA CATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGAC CCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGG CGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGC GGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTG GTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCT CCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAA ACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGA ACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGG AGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACC TGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATC GCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGG AGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTG GACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAG CTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGG GAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGC

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 Secuencia de aminoácidos VL Los residuos de aminoácidos subrayados son las secuencias de CDR según Kabat	21	DIVMTQAAPSVPVTPGESVSISCR <u>STKSLLHFNGN</u> <u>TYLFWFLQRPQGQSPQRLIYYMSNLAS</u> GVDPDRFSG RSGGTDFTLRISRVEAEDVGYYCM <u>QSLEYPFTF</u> GTGTKLEIK
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 Secuencia de aminoácidos VH Los residuos de aminoácidos subrayados son las secuencias de CDR según Kabat	20	EVQLQQSGAELVRPGAFVKLSCKASGFNIK <u>DYYM</u> <u>NWVLQRPEQGLEWIGWIDPDNGNTIYDPKFQ</u> GK ASITADTSSNTAYLQLSSLTSEDVAVYYCARR <u>LLM</u> <u>DYWGQG</u> TSVTVSS
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 CDR-L1 según Kabat	25	RSTKSLLHFNGNTYLF
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 CDR-L2 según Kabat	26	YYMSNLAS
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 CDR-L3 según Kabat	27	MQSLEYPFT
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 alternativo CDR-L1 alternativa según Kabat	71	RSTKSLLHFNGNTYLF

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 alternativo CDR-L2 alternativa según Kabat	72	YYMSNLAS
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 alternativo CDR-L3 alternativa según Kabat	73	MQSLEYPFT
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 CDR-H1 según Kabat	22	DYYMN
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 CDR-H2 según Kabat	23	WIDPDNGNTIYDPKFQG
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 CDR-H3 según Kabat	24	RLLMDY
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 CDR-L1 según Chothia	31	STKSLLHFNGNTYL
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 CDR-L2 según Chothia	32	YYMSN
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 CDR-L3 según Chothia	33	QSLEYPFT
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 alternativo CDR-L1 alternativa según Chothia	74	STKSLLHFNGNTYL

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 alternativo CDR-L2 alternativa según Chothia	75	YYMSN
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 alternativo CDR-L3 alternativa según Chothia	76	QSLEYPFT
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 CDR-H1 según Chothia	28	GFNIKDYIMN
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 CDR-H2 según Chothia	29	WIDPDNGN
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 CDR-H3 según Chothia	30	RLLMDY
ADWA11_VK01 (1) (también conocida en el presente documento como adwa_VL_1.1 L46R) Secuencia de aminoácidos VL	47	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHFNGN TYLFWYQQKPGKAPKRLIYYMSNLAGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCMQSLEYPFTFG QGTEKVEIK
ADWA11_VK01_1a (1) L29I Secuencia de aminoácidos VL	48	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSILHFNGN TYLFWYQQKPGKAPKRLIYYMSNLAGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCMQSLEYPFTFG QGTEKVEIK

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
ADWA11_VK01_1b (1) L30S Secuencia de aminoácidos VL	49	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSTKSLSHFNGN <u>TYLFWYQQKPGKAPKRLIYYMSNLASGVPSRFSG</u> SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCMQSL <u>EYPFTFG</u> QGTKVEIK
ADWA11_VK01_1c (1) T36S Secuencia de aminoácidos VL	50	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSTKSLHFNGN <u>SYLFWYQQKPGKAPKRLIYYMSNLASGVPSRFSG</u> SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCMQSL <u>EYPFTFG</u> QGTKVEIK
ADWA11_VK01_2a (1) Y55A Secuencia de aminoácidos VL	51	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSTKSLHFNGN <u>TYLFWYQQKPGKAPKRLIYAMSNLASGVPSRFSG</u> SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCMQSL <u>EYPFTFG</u> QGTKVEIK
ADWA11_VK01_2b (1) M56A Secuencia de aminoácidos VL	52	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSTKSLHFNGN <u>TYLFWYQQKPGKAPKRLIYYASNLASGVPSRFSG</u> SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCMQSL <u>EYPFTFG</u> QGTKVEIK
ADWA11_VK01_2c (1) N58S Secuencia de aminoácidos VL	53	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSTKSLHFNGN <u>TYLFWYQQKPGKAPKRLIYYMSSLASGVPSRFSG</u> SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCMQSL <u>EYPFTFG</u> QGTKVEIK
ADWA11_VK01_2d (1) A60Q Secuencia de aminoácidos VL	54	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSTKSLHFNGN <u>TYLFWYQQKPGKAPKRLIYYMSNLQSGVPSRFSG</u> SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCMQSL <u>EYPFTFG</u> QGTKVEIK
ADWA11_VK01_3a (1) M94Q Secuencia de aminoácidos VL	55	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSTKSLHFNGN <u>TYLFWYQQKPGKAPKRLIYYMSNLASGVPSRFSG</u> SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQSL <u>EYPFTFG</u> QGTKVEIK

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
ADWA11_VK01_3b (1) L97Y Secuencia de aminoácidos VL	56	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSTKSLHFNGN <u>TYLFWYQQKPGKAPKRLIYYMSNLAGVPSRFSG</u> SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCMQSYEYPFTFG QGTKVEIK
ADWA11_VK01_3c (1) E98S Secuencia de aminoácidos VL	57	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSTKSLHFNGN <u>TYLFWYQQKPGKAPKRLIYYMSNLAGVPSRFSG</u> SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCMQSLSYPFTFG QGTKVEIK
ADWA11_VK01_3d (1) Y99T Secuencia de aminoácidos VL	58	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSTKSLHFNGN <u>TYLFWYQQKPGKAPKRLIYYMSNLAGVPSRFSG</u> SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCMQSLETPFTFG QGTKVEIK
ADWA11_VK01_4a (1) F101L Secuencia de aminoácidos VL	59	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSTKSLHFNGN <u>TYLFWYQQKPGKAPKRLIYYMSNLAGVPSRFSG</u> SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCMQSLEYPLTFG QGTKVEIK
ADWA11_VK01_4b (1) F101W Secuencia de aminoácidos VL	60	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSTKSLHFNGN <u>TYLFWYQQKPGKAPKRLIYYMSNLAGVPSRFSG</u> SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCMQSLEYPWTF GQGTKVEIK
ADWA11_VK01_4c (1) Q105G Secuencia de aminoácidos VL	61	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSTKSLHFNGN <u>TYLFWYQQKPGKAPKRLIYYMSNLAGVPSRFSG</u> SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCMQSLEYPFTFG GGTKVEIK
ADWA11VK1 IGKV2-28 Secuencia de aminoácidos VL	62	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSTKSLHFNGN <u>TYLFWYLQKPGQSPQLLIYYMSNLAGVPSRFSG</u> SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQSLEYPFTF GQGTKVEIK

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
ADWA11VK2 IGKV2-30 Secuencia de aminoácidos VL	63	DVVMTQSPSLSPVTLGQPASISCRSTKSLHFNGN <u>TYLFWFQQRPGQSPRRLIYYMSNLASGVPDRFS</u> SGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC <u>MQSLEYPTFT</u> FGQGTKVEIK
ADWA11VK3 IGKV4-1 Secuencia de aminoácidos VL	64	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSTKSLHFNGN <u>TYLFWYQQKPGQPPKLLIYYMSNLASGVPDRFSG</u> SGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYC <u>MQSLEYPTFTFG</u> QGTKVEIK
ADWA11VK4 IGKV1-39 Secuencia de aminoácidos VL	65	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSTKSLHFNGN <u>TYLFWYQQKPGKAPKLLIYYMSNLASGVPSRFSG</u> SGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC <u>MQSLEYPTFTFG</u> QGTKVEIK
ADWA11VK5 IGKV3-11 Secuencia de aminoácidos VL	66	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRSTKSLHFNGN <u>TYLFWYQQKPGQAPRLLIYYMSNLASGIPARFSG</u> SGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYC <u>MQSLEYPTFTFG</u> QGTKVEIK
ADWA11_VK01_2.1 Secuencia de aminoácidos VL	67	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSTKSLSHFNGN <u>TYLFWYQQKPGKAPKRLLIYYMSNLASGVPSRFSG</u> SGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC <u>QQSLEYPTFTFG</u> GGTKVEIK
ADWA11_VK01_2.2 Secuencia de aminoácidos VL	68	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSTKSLSHFNGN <u>TYLFWYQQKPGKAPKRLLIYYMSNLASGVPSRFSG</u> SGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC <u>MQSYEYPTFTFG</u> GGTKVEIK
ADWA11_VK01_2.3 Secuencia de aminoácidos VL	69	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSTKSLSHFNGN <u>TYLFWYQQKPGKAPKRLLIYYASNLASGVPSRFSG</u> SGSGTDFTLTISLQPEDFATYYC <u>QQSLEYPTFTFG</u> GGTKVEIK

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
ADWA11VH1 IGHV1-46 Secuencia de aminoácidos VH	34	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIK <u>DYYM</u> <u>NWVRQAPGQGLEWIGWIDPDNGNTIYDQKFQGR</u> VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED ~~TAVYYCARRLL~~ <u>MDYWGQGTLVTVSS</u>
ADWA11VH2 IGHV3-23 Secuencia de aminoácidos VH	35	EVQLLES ~~GGGLVQPGGSLRL~~ SCAASGFNIK <u>DYYM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWIGWIDPDNGNTIYDDSVKGR</u> FTISRDN ~~SKNTLYLQMNSL~~ RAEDTAVYYCARR <u>LL</u> <u>MDYWGQGTLVTVSS</u>
ADWA11VH3 IGHV3-30 Secuencia de aminoácidos VH	36	QVQLVESGGGVVQPG ~~SLRL~~ SCAASGFNIK <u>DYY</u> <u>MNWVRQAPGKGLEWIGWIDPDNGNTIYDDSVKG</u> RFTISRDN ~~SKNTLYLQMNSL~~ RAEDTAVYYCARR <u>LL</u> <u>MDYWGQGTLVTVSS</u>
ADWA11VH4 IGHV1-69 Secuencia de aminoácidos VH	37	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIK <u>DYYM</u> <u>NWVRQAPGQGLEWIGWIDPDNGNTIYDQKFQGR</u> VTITADESTSTAYMELSSLRSED ~~TAVYYCARRLLM~~ <u>DYWGQGTLVTVSS</u>
ADWA11VH5 IGHV3-48 Secuencia de aminoácidos VH	38	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK <u>DYYM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWIGWIDPDNGNTIYDDSVKGR</u> FTISRDN ~~AKNSLYLQMNSL~~ RAEDTAVYYCARR <u>LL</u> <u>MDYWGQGTLVTVSS</u>
ADWA11 VH05_VK1 (también conocida como adwa_VH_1.5 T28N + F29I + R72A + A49G + L79A + N74T + A75S) Secuencia de aminoácidos VH	39	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK <u>DYYM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWVGWIDPDNGNTIYDPKFQGR</u> FTISADTSKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCARR <u>LL</u> <u>MDYWGQGTLVTVSS</u>

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
ADWA11VH5 D61E Secuencia de aminoácidos VH	40	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK <u>DYYM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWVGWIDPDNGNTIYEPKFQGR</u> FTISADTSKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCARR <u>LL</u> <u>MDYWGQGTLVTVSS</u>
ADWA11VH5 N55Q Secuencia de aminoácidos VH	41	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK <u>DYYM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWVGWIDPDQGN</u> TIYDPKFQGR FTISADTSKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCARR <u>LL</u> <u>MDYWGQGTLVTVSS</u>
ADWA11VH5 N28Q Secuencia de aminoácidos VH	42	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFQIK <u>DYYM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWVGWIDPDQGN</u> TIYDPKFQGR FTISADTSKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCARR <u>LL</u> <u>MDYWGQGTLVTVSS</u>
ADWA11VH5 K30A Secuencia de aminoácidos VH	43	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIAD <u>YYM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWVGWIDPDNGNTIYDPKFQGR</u> FTISADTSKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCARR <u>LL</u> <u>MDYWGQGTLVTVSS</u>
ADWA11VH5 N57Q Secuencia de aminoácidos VH	44	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK <u>DYYM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWVGWIDPDNGQTIYDPKFQGR</u> FTISADTSKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCARR <u>LL</u> <u>MDYWGQGTLVTVSS</u>
ADWA11VH5 P62A Secuencia de aminoácidos VH	45	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK <u>DYYM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWVGWIDPDNGNTIYDAKFQGR</u> FTISADTSKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCARR <u>LL</u> <u>MDYWGQGTLVTVSS</u>
ADWA11VH5 K63A Secuencia de aminoácidos VH	46	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK <u>DYYM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWVGWIDPDNGNTIYDPAFQGR</u> FTISADTSKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCARR <u>LL</u> <u>MDYWGQGTLVTVSS</u>

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
Secuencia de aminoácidos de ejemplo de la subunidad alfa-V de la integrina humana (ITGAV)	77	MLLGTTTTLLYILMLCRMFLLVGAPKANTTQPGIVE GGQVLKCDWSSTRRCQPIEFDATGNRDYAKDDP LEFKSHQWFGASVRSKQDKILACAPLYHWRTEM KQEREPVGTCFLQDGTKTVEYAPCRSQDIDADG QGFCQGGFSIDFTKADRVLLGGPGSFWQQLIS DQVAEIVSKYDPNVYSIKYNNQLATRТАQAFDDSD YLGYSVAVGDFNGDGIDDFVSGVPRAARTLGMVY IYDGKNMSSLYNFTGEQMAAYFGFSVAATDINGD DYADVFIGAPLFMDRGSDGKLQEVGQVSVSLQRA SGDFQTTKLNGFEVFARFGSAIAPLGLDQDGFN DIAAAPYGGEDKKGIVYIFNGRSTGLNAVPSQILE GQWAARSMPPSFGYSMKGATDIDKNGYPDLIVG AFGVDRAILYRARPVITVNAGLEVYPSILNQDNKT CSLPGTALKVSCFNVRFCCLKADGKGVLPRLNFQ VELLLDKLKQKGAIRRALFLYSRSPSHSKNMTISR GGLMQCEELIAYLRDESEFRDKLTPITIFMEYRLDY RTAADTTGLQPILNQFTPANISRQAHILLDCGEDN VCKPKLEVSVSDSQKKIYIGDDNPLTLIVKAQNQG EGAYEAEIVSIPLQADFIGVVRNNEALARLSCAFK TENQTRQVVCDLGNPMKAGTQLLAGLRFSVHQQ SEMDTSVKFDLQIQSSNLFDKVSPVVSHKVDLAVL AAVEIRGVSSPDHIFLPIPNWEHKENPETEEDVGP VVQHIYELRNNGPSSFSKAMLHLQWPYKYNNNTL LYILHYDIDGPMNCTSDMEINPLRIKISSLQTTEKN DTVAGQGERDHLITKRDLALSEGDIHTLGCGVAQ CLKIVCQVGRDLRGKSAILYVKSLLWTETFMNKEN QNHSYSLKSSASFNVIEFPYKNLPIEDITNSTLVTT NVTWGIQPAPMPVPVWVILAVLAGLLLLAVLVFV MYRMGFFKRVRPPQEEQEREQLQPHENGEGNS ET

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
Secuencia de aminoácidos de ejemplo de la subunidad beta 8 de la integrina humana (ITGB8)	78	MCGSALAFFTAAFVCLQNDRRGPASFLWAAWVF SLVLGLGQGEDNRCASSNAASCARCLALGPECG WCVQEDFISGGSRSERCDIVSNLISKGCSVDSIEY PSVHVIIPTENEINTQVTPGEVSIQLRPGAEANFML KVHPLKKYPVDLYYLVDSASMHNIEKLNSVGN DLSRKMAFFSRDFRLGFGSYVDKTVSPYISIHPER IHNQCSDDYNLDCMPPHGYIHVLSLTENITEFEKAV HRQKISGNIDTPEGGFDAAMLQAAVCESHIGWRKE AKRLLLVMTDQTSHLALDSKLAGIVVPNDGNCHLK NNVYVKSTTMEHPSLGQLSEKLIDNNINIVIFAVQG KQFHWYKDLLPLLPGTIAGEIESKAANLNNLVVEA YQKLISEVKVQVENQVQGIYFNITAICPDGSRKPG MEGCRNVTSNDEVLFNVTVTMKKCDVTGGKNYAI IKPIGFNETAKIHHRNCSCQCEDNRGPKGKCVDE TFLDSKCFQCDENKCHFDEDQFSSESCKSHKDQ PVCSGRGVCVCGKCSCHKIKLGKVYGYCEKDD FSCPYYHGNLCAGHGECEAGRCQCFSGWEGDR CQCPSAAAQHCVNSKGQVCSGRGTCVCGRCEC TDPRSIGRFCEHCPTCYTACKENWNCMQCLPHH NLSQAILDQCKTSCALMEQQHYVDQTSECFSSPS YLRIFFIIFIVTFLIGLLKVLIRQVILQWNSNLIKSSSD YRVSASKKDKLILQSVCTRAVTYRREKP EEIKMDI SKLNAHETFR CNF

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
Secuencia de aminoácidos de ejemplo de la subunidad alfa-V de integrina de ratón(ITGAV)	79	MAAPGRLLLLRPRPGGLLLLLPGLLLPLADAFNLDV ESPAEYAGPEGSYFGFAVDFFEPSTSSRMFLLVG APKANTTQPGIVEGGQVLKCECSSSRRCQPIEFD STGNRDYAKDDPLEFKSHQWFGASVRSKQDKILA CAPLYHWRTMKQEREPVGTCLQDGTKTVEYA PCRSKNIDADGQGFCQGGFSIDFTKADRVLLGGP GSFYWQGQLISDQVAEIISKYDPNVYSIKYNNQLA TRTAQAIFDDSYLGYSVAVGDFNGDGEDFVSGV PRAARTLGMVYIYDGKNMSSLHNFTGEQMAAYF GFSVAATDINGDDYADVFIGAPLFMDRGSDGKLQ EVGQVSVSLQRAVGDFQTTKLNGFEVFARFGSAI APLGDLDQDGFNDIAIAAPYGGEDKKGLVYIFNGR STGLNSVPSQILEGQWAAQSMPPSFGYSMKGAT DVDRNGYPDLVVGAFGVDRVLYRARPVTVNA GLEVYPSILNQDNKICPLPGTALKVSCFNVRFLK ADGKGTLPRLHFQVELLLDKLKQKGAI RRALFLH NRSPVHSKTMTVFRGGQM QCEELVAYLRDESEF RDKLTPITIFMEYRLDQRTAADATGLQPILNQFTPA NVS RQAHILLDCGEDNVCKPKLEVSVNSDQKKIYI GDDNPLTLTVKAQNQGEGAYEAE LIVSIPPQADFI GVVRNNEALARLSCAFKTENQTRQVVCDLGNPM KAGTQLLAGLRFSVHQQSEMDTSVKFDLKIQSSN SFDNVSPVVS YKVDLAVLA AVEIRGVSSPDHIFLPI PNWEYKENPETEEDVGPIVQHIYELRNNGPSSFS KAILNLQWPYKYNNNTLLYILHYDIDGPMNCTADT EINPLRIKTPEKNDTAAAGQGERNHLITKRDLTLRE GDVHTLGCGIAKCLQITCQVGRDRGKSAILYVKS LLWTETFMNKENQNHSSYSLKSSASFNIIEFPYKNL PIEDLFNSTLVTTNITWGIQPAPMPVPVWVILAVLA GLLLLAVLVFVMYRMGFFKRV RPPQEEQEREQLQ PHENGEGNSET

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
Secuencia de aminoácidos de ejemplo de la subunidad beta 8 de la integrina de ratón (ITGB8)	80	MCGSALAFLTAALLSLHNCQRGPALVLGAAWVFS LVLGLGQSEHNRCGSANVVSCARCLQLGPECGW CVQEDFVSGGSGSERCDTVSSLISKGCPVDSIEY LSVHVVTSSENEINTQVTPGEVSVQLHPGAEANF MLKVRPLKKYPVDLYYLVDSASMHNIEKLNSV GNDLSKKMALYSRDFRLGFGSYVDKTVSPYISHP ERIHNQCSLDYNLDCMPPHGYIHVLSLTENITEFEK AVHRQKISGNIDTPEGGFDAAMLQAAVCESHIGWR KEAKRLLLVMTDQTSHLALDSKLAGIVVPNDGNC HLKNNVYVKSTTMEHPSLGQLSEKLIDNNINVIFAV QGKQFHWYKDLLPLLPGAIAIEESKAANLNNLVV EAYKKIIEVKVQLENQVHGVHFNITAICPDGARKP GISGCGNVTSDNDEVLFNVTVMKTCDIMGGKNYA IIPKPIGFNETTKVHIHRSCSCQCENHRGLKGQCAE AAPDPKCPQCDDSRCHFDEDQFPSETCKPQEDQ PVCSGRGVCICGKCLCHKTKLGRVYGQYCEKDD FSCPYLHGDVCAGHGECEGGRCQCFSGWEGDR CQCPSASAQHCVNSKGQVCSGRGTCVCGRCEC TDPRSIGRLCEHCPTCHLSCSENWNCLQCLHPHN LSQAALDQCKSSCAVMEQHRMDQTSECLSGPSY LRIFFIIFIVTFLIGLLKVLIRQVILQWNNNKKIKSSSD YRMSASKKDKLILQSVCTRAVTYRREKPEEIKMDI SKLNAQEAFCNF

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
Secuencia de aminoácidos de ejemplo de la subunidad alfa-V de la integrina <i>cynomolgus</i> (ITGAV)	84	MASPPRRRLRLGPRGLPLLLSGLLLPLCRAFNLDV DSPA EYSGPEGSYFGFAVDFFVPSASSRMFLLVG APKANTTQPGIVEGGQVLKCDWSSTRRCQPIEFD ATGNRDYAKDDPLEFKSHQWFGASVRSKQDKILA CAPLYHWRTTELKQEREPVGTGFLQDGTKTVEYAP CRSQDIDADGQGFCQGGFSIDFTKADRVLLGGPG SFYWQGQLISDQVAEIVSKYDPNVYSIKYNNQLAT RTAQAI FDDSYLGYSVAVGDFNGDGIDDFVSGVP RAARTLGMVYIYDGKNMSSIYNFTGDQMAAYFGF SVAATDINGDDYADVFIGAPLFMDRGS DGKLQEV GQVSVSLQRASGDFQTTKLNGFEVFARFGSAIAP LGDLDQDGFNDIAIAAPYGGEDKKGIVYIFNGRST GLNAVPSQILEGQWAARSMPPSFGYS MKGATDID KNGYPDLIVGAFGVDRAILYRARPVITVNAGLEVY PSILNQDNKTC SLPGTALKVSCFNVRFLKADGK GVLPRKLN FQVELLLDKLKQKGAIRRALFLYSRSP SHSKNMTISRGGLMQCEELIAYLRDESEFRDKLTP ITIFMEYWLDYRTAADTTGLQPILNQFTPANISRQA HILLDCGEDNVCKPKLEVFVDS DQKKIYGDDNPL TLIVKAQNQGEGAYEELIVSIPLQADFIGVVRNSE ALARLSCAFKTENQTRQVVC DLGNPMKAGTQLLA GLRFSVHQQSEMDTSVKFDLQIQSSNLFDKVSPV VSHKVDLAVLAAVEIRGVSSPDHIFLPIPNWEHKE NPETEEDVGPVWQHIYELRNNGPSSFSKAMLHLQ WPYKYNNNTLLYILHYDIDGPMNCTSDMEINPLRI KISSLQATEKNDTVAGQGERDHLITKRDLALSEG D IHTLGCGVAQCLKIVCQVGR LDRGKSAILYVKSL L WTETFMNKENQNHSYSLKSSASFNVIEFPYKNLPI EDITNSTLVTTNVTWGIQPAPMPVPVWVILAVLAG LLLLAVLVFVMYRMGFFKRV RPPQEEQEREQLQP HENEGNSET

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
Secuencia de aminoácidos de ejemplo de la subunidad beta 8 de la integrina <i>cynomolgus</i> (ITGB8)	85	MCGSALAFFTAAFVCLQNDRRGPASFLWAAWVL SLVLGLGQGEDNICASSNAASCARCLALGPECGW CVQEDFISGGSRSERCDIVSNLISKGCSVDSIEYP SVHVIIPTENEINTQVTPGEVSIQLRPGAEANFMLK IHPLKKYPVDLYYLVDVSASMHNIEKLNSVGNDL SRKMAFFSRDFRLGFGSYVDKTVSPYISIHPERIH NQCSDYNLDCMPPHGYIHVLSLTENITEFEKAVHR QKISGNIDTPEGGFDAAMLQAAVCESHIGWRKEAK RLLLVMTDQTSHLALDSKLAGIVVPNDGNCHLKN NVYVKSTTMEHPSLGQLSEKLIDNNINVIFAVQGK QFHWYKDLLPLLPGTIAGEIESKAANLNNLVVEAY QKLISEVKVHVENQVQGVYFNITAICPDGSRKPGM EGCRNVTSNHEVLFNVTVTMKKCDVTGGKNYAI KPIGFNETAKIHHRNCSCQCEDNRGPKGKCVDE TFLDSKCFQCDENKCHFDEDQFSSESCKSHKDQ PVCSGRGVCVCGKCSCHKIKLGKVYGYCEKDD FSCPYHHGNLCAGHGECEAGRCQCFSGWEGDR CQCPSAAAQHCVNSKGQVCSGRGTCVCGRCEC TDPRSIGRFCEHCPTCHTACKENWNCVQCLPHH NLSQAILDQCKTSCALMEQQHYVDQTSECFSSPS YLRIFFIIFIVTFLIGLLKVLIRQVILQWNSNLIKSSSD YRVASAKKDKLILQSVCTRAVTYRREKPEEIKMDI SKLNAHETFR CNF
El IgG1 Fc de tipo silvestre humano de ejemplo (incluye parte de C _H 1 y bisagra, C _H 2 y C _H 3) La secuencia de la función efectora LLGG de tipo silvestre se indica en cursiva Sitio de glicosilación ligado a N de NST Asn297	81	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQY NST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
Región constante de IgG1 humana de ejemplo La secuencia de la función efectora LLGG de tipo silvestre se indica en cursiva El sitio de glicosilación ligado a N de NST Asn297 Incluye lisina terminal	82	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQY<u>NST</u>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Región constante de IgG1 no efectora humana de ejemplo	184	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
Secuencia de ácido nucleico de la región constante IgG1 no efectora humana de ejemplo	192	GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCT GGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCA CAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTAC TTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCTC AGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACCTTCC CGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGC TTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAA AGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACAC ATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGCTG GGGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCTAAAC CCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCT GAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA CGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA AGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCA GGAAGTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCA AGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATC GAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCC CCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGC CTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGC GACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCG TGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATA GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAG CCTCTCCCTGTCCCCCGGA

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
Región constante de IgG1 no efectora humana de ejemplo (con lisina terminal)	181	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSGSEFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
Secuencia de ácido nucleico de región constante de IgG1 no efectora humana de ejemplo (con lisina terminal)	193	GCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCT GGCACCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCA CAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTAC TTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCTC AGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACACCTTCC CGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGC TTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAAT CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAA AGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACAC ATGCCACCGTGCCCAGCACCTGAAGCCGCTG GGGCACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCTAAAC CCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCT GAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA CGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAA AGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTAC CGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCA GGAAGTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCA AGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATC GAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCC CCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGC CTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGC GACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCA GCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCG TGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATA GCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAG CAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAG CCTCTCCCTGTCCCCCGGAAAA

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
Región constante de IgG2 humana de ejemplo	70	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTERKCC VECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQFNSTFRVVS VLT VVHQDWLNGKEYKCKVSN KGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Región constante de cadena ligera kappa humana de ejemplo(Ck)	83	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
Secuencia de ácido nucleico de la región constante (Ck) de la cadena ligera kappa humana de ejemplo	194	CGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTC CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAC GCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTAT CCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGA TAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGA GTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACC TACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAA AGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTG CGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCG TCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
Región constante de cadena pesada de IgG1 murina de ejemplo	86	AKTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFP EPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSV TVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDC GCKPCICTVPPVSSVFIFPPKPKDVLITLTPKVTC VVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREE QFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKAFACAVNSAAF PAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKV SLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYKNTQPI MDTDGSYFVYSKLVQKSNWEAGNTFTCSVLHE GLHNHHTKSLSHSPGK
Región constante de cadena ligera murina de ejemplo	87	RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK DINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSM SSTLTLTKEDEYERHNSYTCETHKTSTSPIVKSFN RNEC
adwa_VH_1.1 T28N + F29I	88	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFniK <u>DYYM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWVAWIDPDNGNTIYDPKFQGR</u> FTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARR <u>LL</u> <u>MDYWGQGTLVTVSS</u>
adwa_VH_1.2 T28N + F29I + R72A	89	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFniK <u>DYYM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWVAWIDPDNGNTIYDPKFQGR</u> FTISaDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARR <u>LLM</u> <u>DYWGQGTLVTVSS</u>
adwa_VH_1.3 T28N + F29I + R72A + A49G + L79A	90	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFniK <u>DYYM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWVgWIDPDNGNTIYDPKFQGR</u> FTISaDNAKNSaYLQMNSLRAEDTAVYYCARR <u>LLM</u> <u>DYWGQGTLVTVSS</u>

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
adwa_VH_1.4 T28N + F29I + R72A + N74T + A75S	91	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFniK <u>DYYM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWVAWIDPDNGNTIYDPKFQGR</u> FTISaDtsKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARR <u>LLM</u> <u>DYWGQGTLVTVSS</u>
adwa_VL_1.2 L46R + Y36F	92	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLHFNGN <u>TYLFWfQQKPGKAPKRLIYYMSNLASGVPSRFSGS</u> GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCMQSLEYPFTFGQ GTKVEIK
VH05-2(F64V) VK01	93	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK <u>DYYM</u> <u>NWVRQAPGKGLEWVGWIDPDQGN TIYEPKVQGR</u> FTISADTSKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCARR <u>LL</u> <u>MDYWGQGTLVTVSS</u>
5662_01	94	EPKFQGRFTISADTS
5662_02	95	TAVYYCARRLLMDYW
5662_03	96	TAVYYSARRLLXDYW
5662_04	97	KSLHFNGNTYLFWY
5662_05	98	PKRLIYYMSNLASGV
5662_06	99	PKRLIYYXSNLASGV
5662_07	100	LIYYMSNLASGVPSR
5662_08	101	LIYYXSNLASGVPSR
5662_09	102	FATYYCMQSLEYPFT
5662_10	103	FATYYSXQSLEYPFT
5662_11	104	EYPFTFGQG GTKVEIK
5662_12	105	EPKVQGRFTISADTS
5662_13	106	KSLSHFNGNTYLFWY
5662_14	107	FATYYCQQSLEYPFT
5662_15	108	FATYYSQQSLEYPFT
5662_16	109	FATYYCMQSYEYPFT
5662_17	110	FATYYSXQSYEYPFT
5662_18	111	EYPFTFGGG GTKVEIK
5662_19	112	KRLIYYASN LASGVP

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
5662_20	113	KRLIYYMSSLASGVP
5662_21	114	KRLIYYXSSLASGVP
5662_22	115	QGDSLRTYYASWYQQ
5662_23	116	VLVIYGKHKRPSGIP
5662_24	117	EADYYCMSRSIWGNP
5662_25	118	EADYYSXSRSIWGNP
5662_26	119	SETLSLTCAVSGYST
5662_27	120	GLEWIGSISHTGNTY
5662_28	121	NPPLKSRVTISVDTS
5662_29	122	DTAVVYCARGGGISR
ADWA 11 VK01	123	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRSTKSLHFNGN TYLFWYQQKPGKAPKRLIYYMSNLASGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCMQSLEYPFTFG QGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC
ADWA11 VH05	124	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDYIM NWVRQAPGKGLEWVGWIDPDNGNTIYDPKFQGR FTISADTSKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRLL MDYWGGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
ADWA11 VH05 sin residuo de lisina terminal	182	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDYIM NWVRQAPGKGLEWVGWIDPDNGNTIYDPKFQGR FTISADTSKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRLL MDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG
Bisagra de IgG1 humana de tipo silvestre	125	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP
Efector nulo (3m, triple mutante) bisagra de IgG1 humana variante	126	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAP
IGHV3-07 (DP-54) línea germinal de cadena pesada	127	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYW MSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKG RFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGKV1-39 (DPK-9) línea germinal de cadena ligera	128	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNW YQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTP
péptido sintético HA derivado de la hemaglutinina de la influenza A	129	PKYVKQNTLKLAT
Epítipo TET 830 modificado / T-auxiliar del toxoide tetánico	130	AQYIKANSKFIGITEL

Nombre	SEC ID NO.	Secuencia
IMGT – cadena pesada	195	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMSWVRQA PGKGLEWVAN IKQDGSEKYY VDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCAR
IMGT – cadena ligera	196	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQIS ----S—YLNW YQQKPGKAPK LLIYAASSLQ SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCQQSYSTP

* En algunos péptidos, la metionina se reemplazó por norleucina.

Tabla 14: CDR de cadena pesada de ejemplo según Kabat

VH (SEC ID NO)	CDR-H1 (SEC ID NO)	CDR-H2 (SEC ID NO)	CDR-H3 (SEC ID NO)
ADWA-11 VH de ratón (SEC ID NO: 20)	DYYMN (SEC ID NO: 22)	WIDPDNGNTIYDPKF QG (SEC ID NO: 23)	RLLMDY (SEC ID NO: 24)
ADWA11 2.4 VH (SEC ID NO: 6)	DYYMN (SEC ID NO: 8)	WIDPDQGNTIYEPKF QG (SEC ID NO: 9)	RLLMDY (SEC ID NO: 10)
ADWA11VH1 IGHV1-46 (SEC ID NO: 34)	DYYMN (SEC ID NO: 8)	WIDPDNGNTIYDQKF QG (SEC ID NO: 157)	RLLMDY (SEC ID NO: 10)
ADWA11VH2 IGHV3-23 (SEC ID NO: 35)	DYYMN (SEC ID NO: 8)	WIDPDNGNTIYDDSV KG (SEC ID NO: 158)	RLLMDY (SEC ID NO: 10)
ADWA11VH3 IGHV3-30 (SEC ID NO: 36)	DYYMN (SEC ID NO: 8)	WIDPDNGNTIYDDSV KG (SEC ID NO: 158)	RLLMDY (SEC ID NO: 10)
ADWA11VH4 IGHV1-69 (SEC ID NO: 37)	DYYMN (SEC ID NO: 8)	WIDPDNGNTIYDQKF QG (SEC ID NO: 157)	RLLMDY (SEC ID NO: 10)

VH (SEC ID NO)	CDR-H1 (SEC ID NO)	CDR-H2 (SEC ID NO)	CDR-H3 (SEC ID NO)
ADWA11VH5 IGHV3-48 (SEC ID NO: 38)	DYYMN (SEC ID NO: 8)	WIDPDNGNTIYDDSV KG (SEC ID NO: 158)	RLLMDY (SEC ID NO: 10)
ADWA11 VH05_VK1 (también conocida como adwa_VH_1.5 T28N + F29I + R72A + A49G + L79A + N74T + A75S) (SEC ID NO: 39)	DYYMN (SEC ID NO: 8)	WIDPDNGNTIYDPKF QG (SEC ID NO: 23)	RLLMDY (SEC ID NO: 10)
ADWA11VH5 D61E (SEC ID NO: 40)	DYYMN (SEC ID NO: 8)	WIDPDNGNTIYEPKF QG (SEC ID NO: 160)	RLLMDY (SEC ID NO: 10)
ADWA11VH5 N55Q (SEC ID NO: 41)	DYYMN (SEC ID NO: 8)	WIDPDQGNTIYDPKF QG (SEC ID NO: 161)	RLLMDY (SEC ID NO: 10)
ADWA11VH5 N28Q (SEC ID NO: 42)	DYYMN (SEC ID NO: 8)	WIDPDQGNTIYDPKF QG (SEC ID NO: 161)	RLLMDY (SEC ID NO: 10)
ADWA11VH5 K30A (SEC ID NO: 43)	DYYMN (SEC ID NO: 8)	WIDPDNGNTIYDPKF QG (SEC ID NO: 23)	RLLMDY (SEC ID NO: 10)
ADWA11VH5 N57Q (SEC ID NO: 44)	DYYMN (SEC ID NO: 8)	WIDPDNGQTIYDPKF QG (SEC ID NO: 162)	RLLMDY (SEC ID NO: 10)
ADWA11VH5 P62A (SEC ID NO: 45)	DYYMN (SEC ID NO: 8)	WIDPDNGNTIYDAKF QG (SEC ID NO: 163)	RLLMDY (SEC ID NO: 10)
ADWA11VH5 K63A (SEC ID NO: 46)	DYYMN (SEC ID NO: 8)	WIDPDNGNTIYDPAF QG (SEC ID NO: 165)	RLLMDY (SEC ID NO: 10)
adwa_VH_1.1 T28N + F29I (SEC ID NO: 88)	DYYMN (SEC ID NO: 8)	WIDPDNGNTIYDPKF QG (SEC ID NO: 23)	RLLMDY (SEC ID NO: 10)
adwa_VH_1.2 T28N + F29I + R72A (SEC ID NO: 89)	DYYMN (SEC ID NO: 8)	WIDPDNGNTIYDPKF QG (SEC ID NO: 23)	RLLMDY (SEC ID NO: 10)
adwa_VH_1.3 T28N + F29I + R72A + A49G + L79A (SEC ID NO: 90)	DYYMN (SEC ID NO: 8)	WIDPDNGNTIYDPKF QG (SEC ID NO: 23)	RLLMDY (SEC ID NO: 10)

VH (SEC ID NO)	CDR-H1 (SEC ID NO)	CDR-H2 (SEC ID NO)	CDR-H3 (SEC ID NO)
adwa_VH_1.4 T28N + F29I + R72A + N74T + A75S (SEC ID NO: 91)	DYYMN (SEC ID NO: 8)	WIDPDNGNTIYDPKF QG (SEC ID NO: 23)	RLLMDY (SEC ID NO: 10)
VH05-2(F64V) VK01 (SEC ID NO: 93)	DYYMN (SEC ID NO: 8)	WIDPDQGNTIYEPKV QG (SEC ID NO: 166)	RLLMDY (SEC ID NO: 10)

Tabla 15: CDR de cadena ligera de ejemplo según Kabat

VL (SEC ID NO)	CDR-L1 (SEC ID NO)	CDR-L2 (SEC ID NO)	CDR-L3 (SEC ID NO)
ADWA-11 VL de ratón (SEC ID NO: 21)	RSTKSLHFNGNTYL F (SEC ID NO: 25)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	MQSLEYPFT (SEC ID NO: 27)
ADWA11 2.4 (SEC ID NO: 7)	RSTKSLSHFNGNTYL F (SEC ID NO: 11)	YYMSSLAS (SEC ID NO: 12)	QQSLEYPFT (SEC ID NO: 13)
ADWA11_VK01 (1) (también conocido en este documento como adwa_VL_1.1 L46R) (SEC ID NO: 47)	RSTKSLHFNGNTYL F (SEC ID NO: 25)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	MQSLEYPFT (SEC ID NO: 27)
ADWA11_VK01_1a (1) L29I (SEC ID NO: 48)	RSTKSILHFNGNTYL F (SEC ID NO: 138)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	MQSLEYPFT (SEC ID NO: 27)
ADWA11_VK01_1b (1) L30S (SEC ID NO: 49)	RSTKSLSHFNGNTYL F (SEC ID NO: 11)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	MQSLEYPFT (SEC ID NO: 27)
ADWA11_VK01_1c (1) T36S (SEC ID NO: 50)	RSTKSLHFNGNSYL F (SEC ID NO: 140)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	MQSLEYPFT (SEC ID NO: 27)
ADWA11_VK01_2a (1) Y55A (SEC ID NO: 51)	RSTKSLHFNGNTYL F (SEC ID NO: 25)	YAMSNLAS (SEC ID NO: 142)	MQSLEYPFT (SEC ID NO: 27)
ADWA11_VK01_2b (1) M56A (SEC ID NO: 52)	RSTKSLHFNGNTYL F (SEC ID NO: 25)	YYASNLAS (SEC ID NO: 144)	MQSLEYPFT (SEC ID NO: 27)

VL (SEC ID NO)	CDR-L1 (SEC ID NO)	CDR-L2 (SEC ID NO)	CDR-L3 (SEC ID NO)
ADWA11_VK01_2c (1) N58S (SEC ID NO: 53)	RSTKSLHFNGNTYL F (SEC ID NO: 25)	YYMSSLAS (SEC ID NO: 12)	MQSLEYPFT (SEC ID NO: 27)
ADWA11_VK01_2d (1) A60Q (SEC ID NO: 54)	RSTKSLHFNGNTYL F (SEC ID NO: 25)	YYMSNLQS (SEC ID NO: 146)	MQSLEYPFT (SEC ID NO: 27)
ADWA11_VK01_3a (1) M94Q (SEC ID NO: 55)	RSTKSLHFNGNTYL F (SEC ID NO: 25)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	QQSLEYPFT (SEC ID NO: 13)
ADWA11_VK01_3b (1) L97Y (SEC ID NO: 56)	RSTKSLHFNGNTYL F (SEC ID NO: 25)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	MQSYEYPFT (SEC ID NO: 147)
ADWA11_VK01_3c (1) E98S (SEC ID NO: 57)	RSTKSLHFNGNTYL F (SEC ID NO: 25)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	MQSLSYPFT (SEC ID NO: 149)
ADWA11_VK01_3d (1) Y99T (SEC ID NO: 58)	RSTKSLHFNGNTYL F (SEC ID NO: 25)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	MQSLETPFT (SEC ID NO: 151)
ADWA11_VK01_4a (1) F101L (SEC ID NO: 59)	RSTKSLHFNGNTYL F (SEC ID NO: 25)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	MQSLEYPLT (SEC ID NO: 153)
ADWA11_VK01_4b (1) F101W (SEC ID NO: 60)	RSTKSLHFNGNTYL F (SEC ID NO: 25)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	MQSLEYPWT (SEC ID NO: 155)
ADWA11_VK01_4c (1) Q105G (SEC ID NO: 61)	RSTKSLHFNGNTYL F (SEC ID NO: 25)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	MQSLEYPFT (SEC ID NO: 27)
ADWA11VK1 IGKV2-28 (SEC ID NO: 62)	RSTKSLHFNGNTYL F (SEC ID NO: 25)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	MQSLEYPFT (SEC ID NO: 27)
ADWA11VK2 IGKV2-30 (SEC ID NO: 63)	RSTKSLHFNGNTYL F (SEC ID NO: 25)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	MQSLEYPFT (SEC ID NO: 27)
ADWA11VK3 IGKV4-1 (SEC ID NO: 64)	RSTKSLHFNGNTYL F (SEC ID NO: 25)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	MQSLEYPFT (SEC ID NO: 27)

VL (SEC ID NO)	CDR-L1 (SEC ID NO)	CDR-L2 (SEC ID NO)	CDR-L3 (SEC ID NO)
ADWA11VK4 IGKV1-39 (SEC ID NO: 65)	RSTKSLHFNGNTYL F (SEC ID NO: 25)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	MQSLEYPFT (SEC ID NO: 27)
ADWA11VK5 IGKV3-11 (SEC ID NO: 66)	RSTKSLHFNGNTYL F (SEC ID NO: 25)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	MQSLEYPFT (SEC ID NO: 27)
ADWA11_VK01_2.1 (SEC ID NO: 67)	RSTKSLSHFNGNTYL F (SEC ID NO: 11)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	QQSLEYPFT (SEC ID NO: 13)
ADWA11_VK01_2.2 (SEC ID NO: 68)	RSTKSLSHFNGNTYL F (SEC ID NO: 11)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	MQSYEYPFT (SEC ID NO: 147)
ADWA11_VK01_2.3 (SEC ID NO: 69)	RSTKSLSHFNGNTYL F (SEC ID NO: 11)	YYASNLAS (SEC ID NO: 144)	QQSLEYPFT (SEC ID NO: 13)
adwa_VL_1.2 L46R + Y36F (SEC ID NO: 92)	RSTKSLHFNGNTYL F (SEC ID NO: 25)	YYMSNLAS (SEC ID NO: 26)	MQSLEYPFT (SEC ID NO: 27)

Tabla 16: CDR de cadena pesada de ejemplo según Chothia

VH (SEC ID NO)	CDR-H1 (SEC ID NO)	CDR-H2 (SEC ID NO)	CDR-H3 (SEC ID NO)
ADWA-11 VH de ratón (SEC ID NO: 20)	GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 28)	WIDPDNGN (SEC ID NO: 29)	RLLMDY (SEC ID NO: 30)
ADWA11 2.4 VH (SEC ID NO: 6)	GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 14)	WIDPDQGN (SEC ID NO: 15)	RLLMDY (SEC ID NO: 16)
ADWA11VH1 IGHV1-46 (SEC ID NO: 34)	GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 14)	WIDPDNGN (SEC ID NO: 29)	RLLMDY (SEC ID NO: 16)
ADWA11VH2 IGHV3-23 (SEC ID NO: 35)	GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 14)	WIDPDNGN (SEC ID NO: 29)	RLLMDY (SEC ID NO: 16)
ADWA11VH3 IGHV3-30 (SEC ID NO: 36)	GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 14)	WIDPDNGN (SEC ID NO: 29)	RLLMDY (SEC ID NO: 16)

VH (SEC ID NO)	CDR-H1 (SEC ID NO)	CDR-H2 (SEC ID NO)	CDR-H3 (SEC ID NO)
ADWA11VH4 IGHV1-69 (SEC ID NO: 37)	GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 14)	WIDPDNGN (SEC ID NO: 29)	RLLMDY (SEC ID NO: 16)
ADWA11VH5 IGHV3-48 (SEC ID NO: 38)	GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 14)	WIDPDNGN (SEC ID NO: 29)	RLLMDY (SEC ID NO: 16)
ADWA11 VH05_VK1 (también conocida como adwa_VH_1.5 T28N + F29I + R72A + A49G + L79A + N74T + A75S) (SEC ID NO: 39)	GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 14)	WIDPDNGN (SEC ID NO: 29)	RLLMDY (SEC ID NO: 16)
ADWA11VH5 D61E (SEC ID NO: 40)	GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 14)	WIDPDNGN (SEC ID NO: 29)	RLLMDY (SEC ID NO: 16)
ADWA11VH5 N55Q (SEC ID NO: 41)	GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 14)	WIDPDQGN (SEC ID NO: 15)	RLLMDY (SEC ID NO: 16)
ADWA11VH5 N28Q (SEC ID NO: 42)	GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 14)	WIDPDQGN (SEC ID NO: 15)	RLLMDY (SEC ID NO: 16)
ADWA11VH5 K30A (SEC ID NO: 43)	GFNIADYMMN (SEC ID NO: 159)	WIDPDNGN (SEC ID NO: 29)	RLLMDY (SEC ID NO: 16)
ADWA11VH5 N57Q (SEC ID NO: 44)	GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 14)	WIDPDNGQ (SEC ID NO: 164)	RLLMDY (SEC ID NO: 16)
ADWA11VH5 P62A (SEC ID NO: 45)	GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 14)	WIDPDNGN (SEC ID NO: 29)	RLLMDY (SEC ID NO: 16)
ADWA11VH5 K63A (SEC ID NO: 46)	GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 14)	WIDPDNGN (SEC ID NO: 29)	RLLMDY (SEC ID NO: 16)

VH (SEC ID NO)	CDR-H1 (SEC ID NO)	CDR-H2 (SEC ID NO)	CDR-H3 (SEC ID NO)
adwa_VH_1.1 T28N + F29I (SEC ID NO: 88)	GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 14)	WIDPDNGN (SEC ID NO: 29)	RLLMDY (SEC ID NO: 16)
adwa_VH_1.2 T28N + F29I + R72A (SEC ID NO: 89)	GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 14)	WIDPDNGN (SEC ID NO: 29)	RLLMDY (SEC ID NO: 16)
adwa_VH_1.3 T28N + F29I + R72A + A49G + L79A (SEC ID NO: 90)	GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 14)	WIDPDNGN (SEC ID NO: 29)	RLLMDY (SEC ID NO: 16)
adwa_VH_1.4 T28N + F29I + R72A + N74T + A75S (SEC ID NO: 91)	GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 14)	WIDPDNGN (SEC ID NO: 29)	RLLMDY (SEC ID NO: 16)
VH05-2(F64V) VK01 (SEC ID NO: 93)	GFNIKDYMMN (SEC ID NO: 14)	WIDPDQGN (SEC ID NO: 15)	RLLMDY (SEC ID NO: 16)

Tabla 17: CDR de cadena ligera de ejemplo según Chothia

VL (SEC ID NO)	CDR-L1 (SEC ID NO)	CDR-L2 (SEC ID NO)	CDR-L3 (SEC ID NO)
ADWA-11 VL de ratón (SEC ID NO: 21)	STKSLLHFNGNTYL (SEC ID NO: 31)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 33)
ADWA11 2.4 (SEC ID NO: 7)	STKSLSHFNGNTYL (SEC ID NO: 17)	YYMSS (SEC ID NO: 18)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 19)
ADWA11_VK01 (1) (también conocida en el presente documento como adwa_VL_1.1 L46R) (47)	STKSLLHFNGNTYL (SEC ID NO: 31)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 19)

VL (SEC ID NO)	CDR-L1 (SEC ID NO)	CDR-L2 (SEC ID NO)	CDR-L3 (SEC ID NO)
ADWA11_VK01_1a (1) L29I (SEC ID NO: 48)	STKSILHFNGNTYL (SEC ID NO: 139)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 19)
ADWA11_VK01_1b (1) L30S (SEC ID NO: 49)	STKSLSHFNGNTYL (SEC ID NO: 17)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 19)
ADWA11_VK01_1c (1) T36S (SEC ID NO: 50)	STKSLLHFNGNSYL (SEC ID NO: 141)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 19)
ADWA11_VK01_2a (1) Y55A (SEC ID NO: 51)	STKSLLHFNGNTYL (SEC ID NO: 31)	YAMSN (SEC ID NO: 143)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 19)
ADWA11_VK01_2b (1) M56A (SEC ID NO: 52)	STKSLLHFNGNTYL (SEC ID NO: 31)	YYASN (SEC ID NO: 145)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 19)
ADWA11_VK01_2c (1) N58S (SEC ID NO: 53)	STKSLLHFNGNTYL (SEC ID NO: 31)	YYMSS (SEC ID NO: 18)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 19)
ADWA11_VK01_2d (1) A60Q (SEC ID NO: 54)	STKSLLHFNGNTYL (SEC ID NO: 31)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 19)
ADWA11_VK01_3a (1) M94Q (SEC ID NO: 55)	STKSLLHFNGNTYL (SEC ID NO: 31)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 19)
ADWA11_VK01_3b (1) L97Y (SEC ID NO: 56)	STKSLLHFNGNTYL (SEC ID NO: 31)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSYEYPFT (SEC ID NO: 148)
ADWA11_VK01_3c (1) E98S (SEC ID NO: 57)	STKSLLHFNGNTYL (SEC ID NO: 31)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSLSYPFT (SEC ID NO: 150)
ADWA11_VK01_3d (1) Y99T (SEC ID NO: 58)	STKSLLHFNGNTYL (SEC ID NO: 31)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSLETPFT (SEC ID NO: 152)
ADWA11_VK01_4a (1) F101L (SEC ID NO: 59)	STKSLLHFNGNTYL (SEC ID NO: 31)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSLEYPLT (SEC ID NO: 154)

VL (SEC ID NO)	CDR-L1 (SEC ID NO)	CDR-L2 (SEC ID NO)	CDR-L3 (SEC ID NO)
ADWA11_VK01_4b (1) F101W (SEC ID NO: 60)	STKSLLHFNGNTYL (SEC ID NO: 31)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSLEYPWT (SEC ID NO: 156)
ADWA11_VK01_4c (1) Q105G (SEC ID NO: 61)	STKSLLHFNGNTYL (SEC ID NO: 31)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 19)
ADWA11VK1 IGKV2-28 (SEC ID NO: 62)	STKSLLHFNGNTYL (SEC ID NO: 31)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 19)
ADWA11VK2 IGKV2-30 (SEC ID NO: 63)	STKSLLHFNGNTYL (SEC ID NO: 31)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 19)
ADWA11VK3 IGKV4-1 (SEC ID NO: 64)	STKSLLHFNGNTYL (SEC ID NO: 31)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 19)
ADWA11VK4 IGKV1-39 (SEC ID NO: 65)	STKSLLHFNGNTYL (SEC ID NO: 31)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 19)
ADWA11VK5 IGKV3-11 (SEC ID NO: 66)	STKSLLHFNGNTYL (SEC ID NO: 31)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 19)
ADWA11_VK01_2.1 (SEC ID NO: 67)	STKSLSHFNGNTYL (SEC ID NO: 17)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 19)
ADWA11_VK01_2.2 (SEC ID NO: 68)	STKSLSHFNGNTYL (SEC ID NO: 17)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSYEYPFT (SEC ID NO: 148)
ADWA11_VK01_2.3 (SEC ID NO: 69)	STKSLSHFNGNTYL (SEC ID NO: 17)	YYASN (SEC ID NO: 145)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 19)
adwa_VL_1.2 L46R + Y36F (SEC ID NO: 92)	STKSLLHFNGNTYL (SEC ID NO: 31)	YYMSN (SEC ID NO: 32)	QSLEYPFT (SEC ID NO: 19)

En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de al menos una de las SEC ID No: 11-13, 17-19, 25-27, 31-33, o 71-76.

En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende además una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de al menos una de las SEC ID NO: 8-10, 14-16, 22-24, o 28-30.

5 En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una CDR-L1, una CDR-L2, una CDR-L3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7, y una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6.

10 En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una CDR-L1, una CDR-L2, una CDR-L3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7, y una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 20.

15 En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una CDR-L1, una CDR-L2, una CDR-L3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7, y una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID NO: 34-46, 88-91 o 93.

20 En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una CDR-L1, una CDR-L2, una CDR-L3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 21, y una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6.

25 En algunos aspectos, el anticuerpo, o su fragmento de unión al antígeno, comprende una CDR-L1, una CDR-L2, una CDR-L3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID NO: 47-69 o 92, y una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6.

30 En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una CDR-L1, una CDR-L2, una CDR-L3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5, y una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 2.

En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una CDR-L1, una CDR-L2, una CDR-L3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5, y una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 3.

En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una CDR-L1, una CDR-L2, una CDR-L3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5, y una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 124 o SEC ID NO: 182.

5 En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una CDR-L1, una CDR-L2, una CDR-L3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 123, y una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 124 o SEC ID NO: 182.

10 En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una CDR-L1, una CDR-L2, una CDR-L3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 123, y una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 como se establece en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 2 o SEC ID NO: 3.

15 En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 como se establece en la secuencia de aminoácidos codificada por el inserto del plásmido depositado con la ATCC que tiene el número de acceso PTA-124918.

20 En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 como se establece en la secuencia de aminoácidos codificada por el inserto del plásmido depositado con la ATCC que tiene el número de acceso PTA-124917.

25 En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una secuencia de aminoácidos de una CDR-L1, una CDR-L2 y una CDR-L3 codificada por el inserto del plásmido depositado con el ATCC que tiene el número de acceso PTA-124918, y una secuencia de aminoácidos de una CDR-H1, una CDR-H2 y una CDR-H3 codificada por el inserto del plásmido depositado con la ATCC que tiene el número de acceso PTA-124917.

30 En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos codificada por el inserto del plásmido depositado con la ATCC que tiene el número de acceso PTA-124918.

En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de

aminoácidos codificada por el inserto del plásmido depositado con la ATCC que tiene el número de acceso PTA-124917.

En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 11; una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 12; una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 13; una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 8; una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 9; y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 10.

En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 17; una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 18; una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 19; una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 14; una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 15; y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 16.

En algunos aspectos, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, puede comprender una VH que comprende una secuencia de aminoácidos idéntica al menos en un 90% a la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID NO: 6, 34-46, 88-91 y 93 (ej., SEC ID NO: 6). La VH puede comprender una secuencia de aminoácidos de al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99%, idéntica a la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID NO: 6, 34-46, 88-91 y 93 (ej., SEC ID NO: 6). El VH puede comprender la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID NO: 6, 34-46, 88-91 y 93 (ej., SEC ID NO: 6).

En algunos aspectos, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, puede comprender un VH que comprende una secuencia de aminoácidos idéntica al menos en un 90% a la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6. El VH puede comprender una secuencia de aminoácidos al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99%, idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6. La VH puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6. En algunas modalidades, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6. En algunas modalidades, un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una VH que consta de la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6.

En algunos aspectos, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, puede comprender una VL que comprende una secuencia de aminoácidos idéntica al menos en un 90% a la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID NO: 7, 47-69 y 92 (ej., SEC ID NO: 7). La VL puede comprender una secuencia de aminoácidos al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99%, idéntica a la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID NO: 7, 47-69 y 92 (ej., SEC ID NO: 7). El VL puede comprender la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID NO: 7, 47-69 y 92 (ej., SEC ID NO: 7).

En algunos aspectos, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, puede comprender una VL que comprende una secuencia de aminoácidos idéntica al menos en un 90% a la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7. La VL puede comprender una secuencia de aminoácidos al menos 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99%, idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7. La VL puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7. En algunas modalidades, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7. En algunas modalidades, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una VL que consta de la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7.

En algunos aspectos, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, puede comprender una cadena pesada que comprende un VH que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID NO: 6, 34-46, 88-91 y 93 (ej., SEC ID NO: 6), y que comprende además un dominio constante de IgG1 (ej., un dominio constante de IgG1 que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID NO: 81, 82, 181 o 184). En algunos aspectos, una variante de anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 sustituciones conservadoras o no conservadoras y/o 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 adiciones y/o deleciones a la cadena pesada de longitud completa. En otro aspecto, una variante comparte al menos 65%, al menos 75%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, o al menos 99% de identidad de secuencia con la cadena pesada de longitud completa, y en donde dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se une específicamente a la integrina $\alpha v\beta 8$.

En algunas modalidades, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una cadena pesada que comprende una VH que comprende la

secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6 y comprende además un dominio constante de IgG1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 181 o la SEC ID NO: 184. En algunas modalidades, un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una VH que consta de la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6 y comprende además un dominio constante de IgG1 que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 181 o la SEC ID NO: 184. En algunas modalidades, el anticuerpo carece de funciones efectoras. En aún otras modalidades, la molécula de anticuerpo tiene una región constante de cadena pesada elegida a partir de, por ejemplo, las regiones constantes de cadena pesada de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD, y IgE; en particular, elegidas a partir de, por ejemplo, las regiones constantes de cadena pesada (ej., humanas) de IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. En otra modalidad, la molécula de anticuerpo tiene una región constante de cadena ligera elegida a partir de, ej., las regiones constantes de cadena ligera (ej., humana) de kappa (ej., codificada por la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 83) o lambda. La región constante puede ser alterada, ej., mutada, para modificar las propiedades del anticuerpo (ej., para aumentar o disminuir uno o más de: unión al receptor Fc, glicosilación de anticuerpos, el número de residuos de cisteína, la función de células efectoras, y/o función de complemento). En una modalidad, el anticuerpo tiene: una función efectora; y puede restaurar el complemento. En otras modalidades, el anticuerpo no; recluta células efectoras; o fija el complemento. En otra modalidad, el anticuerpo tiene capacidad reducida o ninguna capacidad para unirse a un receptor Fc. Por ejemplo, es un isotipo o subtipo, fragmento u otro mutante, que no soporta la unión a un receptor Fc, ej., tiene una región de unión al receptor Fc mutagenizada o eliminada.

Los métodos para alterar una región constante de anticuerpo son conocidos en la técnica. Los anticuerpos con función alterada, por ejemplo, afinidad alterada por un ligando efector, tal como FcR en una célula, o el componente C1 de complemento pueden ser producidos mediante el reemplazo de al menos un residuo de aminoácidos en la porción constante del anticuerpo con un residuo diferente (ver, ej., EP 388,151 A1, Patente EE.UU. No. 5,624,821 y Patente EE.UU No. 5,648,260, los contenidos de los cuales se incorporan en la presente como referencia). No. 5,624,821 y Patente EE.UU. No. 5.648.260, cuyos contenidos se incorporan aquí como referencia). Tipos similares de alteraciones pueden describirse lo cuál si se aplica a los murinos, u otras especies de inmunoglobulinas pueden reducir o eliminar estas funciones.

En algunas modalidades, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una cadena ligera que comprende una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEC ID NO: 7, 47-69 y 92 (ej., SEC ID NO: 7), y además comprende un dominio constante kappa que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 83. En algunas modalidades, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una cadena ligera que comprende una VL que consta de la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7 y comprende además un dominio constante kappa que consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 83.

En algunos aspectos, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una cadena pesada (HC) que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97 %, 98% o 99%, idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 2. En algunas modalidades, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 2. En algunas modalidades, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una HC que consta de la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 2. En algunas modalidades, el anticuerpo carece de funciones efectoras.

En algunos aspectos, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una cadena pesada (HC) que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97 %, 98% o 99%, idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 3. En algunas modalidades, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 3. En algunas modalidades, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una HC que consta de la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 3. En algunas modalidades, el anticuerpo carece de funciones efectoras. En algunos aspectos, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una cadena ligera (LC) que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99%, idéntica a la SEC ID NO: 5. En algunas modalidades, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5. En algunas modalidades, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende

una LC que consta de la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5. En algunas modalidades, el anticuerpo carece de función efectora.

Sustituciones de la línea germinal

5 En ciertas modalidades, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende las siguientes secuencias de CDR de cadena pesada: (i) CDR-H1 que comprende la SEQ ID NO: 22, CDR-H2 que comprende la SEQ ID NO: 23, y CDR-H3 que comprende la SEQ ID NO:24; y/o (ii) las siguientes secuencias de CDR de cadena ligera: CDR-L1 que comprende la SEC ID NO: 25 o 71, CDR-L2 que
10 comprende la SEC ID NO: 26 o 72, y CDR-L3 que comprende la SEC ID NO: 27 o 73. En ciertas modalidades, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende las siguientes secuencias de CDR de cadena pesada: (i) CDR-H1 que comprende la SEQ ID NO: 28, CDR-H2 que comprende la SEQ ID NO: 29, y CDR-H3 que comprende la SEQ ID NO:30; y/o (ii) las siguientes secuencias de CDR de cadena
15 ligera: CDR-L1 que comprende la SEC ID NO: 31 o 74, CDR-L2 que comprende la SEC ID NO: 32 o 75, y CDR-L3 que comprende la SEC ID NO: 33 o 76. Estas son CDR de ratón y, preferiblemente, se injertan o se agregan de otro modo en el contexto de un dominio VH y VL de humano. Se encuentra disponible una amplia variedad de secuencias de la línea germinal humana aceptora y el proceso para "humanizar" un
20 anticuerpo de especie no humana para usar en humanos será bien conocido en la técnica y también se discutirá en otra parte del presente documento. Por lo tanto, el experto en la técnica apreciaría que las secuencias de CDR de ratón anteriores se puedan colocar en el contexto de secuencias de aminoácidos del dominio V humano. Al hacerlo, los cambios en las secuencias de la línea germinal humana aceptora
25 generalmente se realizan para preservar la unión del anticuerpo y otras características deseables del anticuerpo precursor (es decir, el donante). Tanto las CDR como las regiones marco (FW) pueden modificarse de la siguiente manera.

En ciertas modalidades, no más de 11, o no más de 10, no más de 9, no más de 8, no más de 7, no más de 6, no más de 5, no más de 4, no más de 3, no más de 2, o
30 no más de 1 sustitución se realiza en CDR-L1, en relación con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25, 31, 71, o 74. En ciertas modalidades, no se hace más de 6, no más de 5, no más de 4, no más de 3, no más de 3, no más de 2, o no más de una sustitución en CDR-L2, en relación con el secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 26, 32, 72, o 75. En ciertas modalidades, no más de 8, no más de 7, no más de

6, no más de 5, no más de 4, no más de 3, no más de 3, no más de 2 o no más de una sustitución se produce en CDR-L3, en relación con la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 27, 33, 73, 76. En algunas modalidades, no más de 10, no más de 9, no más de 8, no más de 7, no más de 6, no más de 5, no más de 4, no más de 3, no más de 2, o no más de 1 sustitución se produce en CDR-H1, en relación con la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 22 o 28. En algunas modalidades, no se hacen más de 17, no más de 16, no más de 15, no más de 14, no más de 13, no más de 12, no más de 11, o no más de un 10, no más de 9, no más de 8, no más de 7, no más de 6, no más de 5, no más de 4, no más de 3, no más de 2 o no más de 1 sustitución en CDR-H2, en relación con la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 23 o 29. En algunas modalidades, no más de 12, no más de 11, o no más de 10, no más de 9, no más de 8, no más de 7, no más de 6, no más de 5, no más de 4, no más de 3, no más de 2 o no más de 1 sustitución se produce en CDR-H3, con respecto a la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 24 o 30. En ciertas modalidades, las sustituciones no cambian el valor de afinidad de unión (K_D) en más de 1000 veces, más de 100 veces o 10 veces. En ciertas modalidades, la sustitución es una sustitución conservativa de acuerdo con la Tabla 1.

En ciertas modalidades, la sustitución es la sustitución de la línea germinal humana en la que un residuo de la CDR (donante) se reemplaza con el residuo de la línea germinal (aceptor) correspondiente, para aumentar el contenido de aminoácidos humanos y potencialmente reducir la inmunogenicidad del anticuerpo como se describe en, por ejemplo, la Publicación de Solicitud de Patente de los Estados Unidos No. 2017/0073395 y Townsend, 2015, *Proc. Nat. Acad. Sci. EE.UU.* 112 (50): 15354-15359).

Los métodos y bibliotecas para introducir residuos de línea germinal humana en CDR de anticuerpos se describen en detalle en la Publicación de Solicitud de Patente de EE. UU. No. 2017/0073395, y Townsend, 2015, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* 112 (50): 15354-15359, y ambos se incorporan en la presente como referencia en su totalidad.

El anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, puede comprender un marco VH que comprende una secuencia marco VH de línea germinal humana. La secuencia marco VH puede ser de una línea germinal VH3 humana, una línea germinal VH1, una línea germinal VH5 o una línea germinal VH4. Los marcos de cadena pesada de línea germinal humana preferidos son marcos derivados de líneas germinales VH1,

VH3 o VH5. Por ejemplo, se pueden usar marcos VH de las siguientes líneas germinales: IGHV3-07, IGHV1-46, IGHV3-23, IGHV3-30, IGHV1-69 o IGHV3-48 (los nombres de las líneas germinales se basan en la definición de la línea germinal IMGT). Los marcos de cadena ligera de línea germinal humana preferidos son marcos

5 derivados de líneas germinales VK o V λ . Por ejemplo, se pueden usar marcos VL de las siguientes líneas germinales: IGKV1-39, IGKV2-28, IGKV2-30, IGKV4-1 o IGKV3-11 (los nombres de las líneas germinales se basan en la definición de la línea germinal IMGT). Alternativamente o además, la secuencia marco puede ser una secuencia marco consenso de línea germinal humana, tal como el marco de secuencia consenso
10 V1 humana, secuencia consenso V1, secuencia consenso V2, secuencia consenso V3, secuencia consenso de línea germinal VH3, secuencia consenso de línea germinal VH1, VH5 secuencia consenso de línea germinal, o secuencia consenso de línea germinal VH4. Las secuencias de marcos de línea germinal humana están disponibles en varias bases de datos públicas, como V-base, IMGT, NCBI o Abysis.

15 El anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, puede comprender un marco VL que comprende una secuencia marco VL de línea germinal humana. El marco VL puede comprender una o más sustituciones, adiciones o deleciones de aminoácidos, mientras conserva la similitud funcional y estructural con la línea germinal de la cual se deriva. En algunos aspectos, el marco VL es al menos 90%, al menos
20 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntico a una secuencia marco VL de línea germinal humana. En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende un marco VL que comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10
25 sustituciones, adiciones o deleciones de aminoácidos en relación con la secuencia marco VL de la línea germinal humana. En algunos aspectos, las sustituciones, adiciones o deleciones de aminoácidos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 están solo en las regiones marco. En algunos aspectos, el porcentaje de identidad se basa en la similitud con VL, excluyendo aquellas porciones definidas aquí como CDR.

El marco VL de línea germinal humana puede ser el marco de DPK9 (nombre
30 IMGT: IGKV1-39, e.g., SEC ID NO:128). El marco VL de la línea germinal humana puede ser el marco de IGKV2-28. El marco VL de línea germinal humana puede ser el marco de DPK18 (nombre IMGT: IGKV2-30). El marco VL de línea germinal humana puede ser el marco de DPK24 (nombre IMGT: IGKV4-1). El marco VL de línea germinal humana puede ser el marco de HK102_V1 (nombre IMGT: IGKV1-5). El marco VL de

línea germinal humana puede ser el marco de Vg_38K (nombre IMGT: IGKV3-11). El marco VL de línea germinal humana puede ser el marco de la secuencia consenso Vλ humana. El marco VL de línea germinal humana puede ser el marco de la secuencia consensoVλ1 humana. El marco VL de línea germinal humana puede ser el marco de la secuencia consensoVλ3 humana. El marco VL de línea germinal humana puede ser el marco de la secuencia consenso VK humana. El marco VL de línea germinal humana puede ser el marco de la secuencia consensoVK1 humana. El marco VL de línea germinal humana puede ser el marco de la secuencia consensoVK2 humana. El marco VL de línea germinal humana puede ser el marco de la secuencia consensoVK3 humana.

En algunos aspectos, el marco de VL es DPK9 (SEC ID NO: 128). También se prevé que otras regiones marco similares proporcionen anticuerpos ventajosos de la invención que comprenden CDR de las SEC ID NO: 11-13 y 17-19; y CDR especificadas por las siguientes secuencias de aminoácidos VL: 7, 47-69 y 92, incluidos, ej., IGKV2-28, IGKV2-30, IGKV4-1 o IGKV3-11, que pueden comprender 99, 97, 97, 96, 80, 76, 66, 97, 97, 96, 76 y 74% de identidad respectivamente con la región FW de DPK-9 y una o menos diferencias de aminoácidos en las características estructurales comunes (numeración de Kabat) (A) residuos directamente debajo de CDR (zona Vernier), L2, L4, L35, L36, L46, L47, L48, L49, L64, L66, L68, L69, L71, (B) VH/VL Residuos del empaque de la cadena: L36, L38, L44, L46, L87 y (C) Residuos de soporte estructural CDR canónicos L2, L48, L64, L71 (véase Lo, “*Antibody Humanization by CDR Grafting*”, (2004) *Antibody Engineering*, Vol. 248, *Methods in Molecular Biology* págs. 135-159 y O'Brien y Jones, “*Humanization of Monoclonal Antibodies by CDR Grafting*”, (2003) *Recombinant Antibodies for Cancer Therapy*, Vol. 207, *Methods in Molecular Biology* págs. 81-100). Particularmente preferidas son las regiones marco de IGKV2-28, IGKV2-30, IGKV4-1 o IGKV3-11 que comparten 99, 97, 97, 96, 80, 76, 66% de identidad con DPK9 respectivamente y no tienen diferencias de aminoácidos en estas características estructurales. En algunos aspectos, el porcentaje de identidad se basa en la similitud con VL, excluyendo aquellas porciones definidas aquí como CDR.

El anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, puede comprender un marco VH que comprende una secuencia marco VH de línea germinal humana. El marco VH puede comprender una o más sustituciones, adiciones o deleciones de aminoácidos, mientras conserva la similitud funcional y estructural con la línea germinal

de la cual se deriva. En algunos aspectos, el marco VH es al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100% idéntico a una secuencia marco VH de línea germinal humana. En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende un marco VH que comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 sustituciones, adiciones o deleciones de aminoácidos en relación con la secuencia marco VH de la línea germinal humana. En algunos aspectos, las sustituciones, adiciones o deleciones de aminoácidos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 están solo en las regiones marco. En algunos aspectos, el porcentaje de identidad se basa en la similitud con VH, excluyendo aquellas porciones definidas aquí como CDR.

El marco VH de la línea germinal humana puede ser, por ejemplo, el marco de IGHV3-07 (también conocido como DP-54), IGHV1-46, IGHV3-23, IGHV3-30, IGHV1-69 o IGHV3-48. El marco VH de línea germinal humana puede ser el marco de la secuencia consenso de línea germinal VH humana. El marco VH de línea germinal humana puede ser el marco de la secuencia consenso de línea germinal VH3 humana. El marco VH de línea germinal humana puede ser el marco de la secuencia consenso de línea germinal VH5 humana. El marco VH de línea germinal humana puede ser el marco de la secuencia consenso de línea germinal VH1 humana. El marco VH de línea germinal humana puede ser el marco de la secuencia consenso de línea germinal VH4 humana.

En algunos aspectos, el marco de VH es IGHV3-07 (SEC ID NO: 127). También se prevé que otras regiones marco similares proporcionen anticuerpos ventajosos de la invención que comprenden CDR de las SEC ID NO: 8-10 y 14-16, y CDR especificadas por cualquiera de las siguientes secuencias de aminoácidos de VH: las SEC ID NO: 6, 34-46, 88-91 y 93, incluidos IGHV3-07, IGHV1-46, IGHV3-23, IGHV3-30, IGHV1-69 o IGHV3-48, que pueden comprender 93, 92, 92, 99, 97, 97, 96, 96, 94, 94, 93, 92% de identidad respectivamente con la región FW de DP-54 y una o menos diferencias de aminoácidos en las características estructurales comunes (Numeración de Kabat) (A) residuos directamente debajo de CDR (Zona Vernier), H2, H47, H48 y H49, H67, H69, H71, H73, H93, H94, (B) VH/VL Residuos del empaque de la cadena: H37, H39, H45, H47, H91, H93 y (C) Residuos de soporte estructural CDR canónicos H24, H71, H94 (véase, Lo 2004 y O'Brien y Jones 2003). Regiones marco de ejemplo de DP-50, IGHV3-30*09, IGHV3-30*15 que comparten 93, 92 y 92% de identidad con DP-54 respectivamente y no tienen diferencias de aminoácidos en estas características

estructurales comunes. En algunos aspectos, el porcentaje de identidad se basa en la similitud con VH, excluyendo aquellas porciones definidas aquí como CDR.

En ciertas modalidades, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, descrito en el presente documento comprende (i) una VH que comprende una
5 secuencia de aminoácidos que es al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N°:6, y/o (ii) una VL que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos
10 50%, al menos 60%, al menos 66%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 76%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:7. Cualquier combinación de estas secuencias VL y VH también está incluida en la
15 invención.

En ciertas modalidades, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, descrito en el presente documento comprende (i) una HC que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 91%, al menos
20 92%, al menos 93%, al menos 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEC ID N°:2 o SEC ID N°:3, y/o (ii) una LC que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 50%, al menos 60%, al al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 91%, al menos 92%, al menos 93%, al menos
25 94%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntica a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:5. Cualquier combinación de estas secuencias HC y LC también está incluida en la invención.

En ciertas modalidades, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, descrito en la presente comprende un dominio Fc. El dominio Fc puede
30 derivarse de IgA (ej., IgA₁ o IgA₂), IgG, IgE o IgG (ej., IgG₁, IgG₂, IgG₃ o IgG₄).

La invención proporciona además un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que compite por la unión a la integrina $\alpha\beta 8$ humana con el péptido asociado a la latencia (LAP). Por ejemplo, si la unión de un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, a la integrina $\alpha\beta 8$ humana dificulta la unión

posterior de LAP a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, entonces el anticuerpo, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, compite con LAP por la unión a la integrina $\alpha\beta 8$.

Los anticuerpos y los fragmentos de unión a antígeno proporcionados por la invención incluyen anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, fragmentos de anticuerpos (ej., Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, Fc, etc.), anticuerpos quiméricos, anticuerpos biespecíficos, anticuerpos heteroconjugados, cadena sencilla (ScFv), mutantes de los mismos, proteínas de fusión que comprenden un fragmento de anticuerpo, anticuerpos de dominio (dAbs), anticuerpos humanizados y cualquier otra configuración modificada de la molécula de inmunoglobulina que comprende un sitio de reconocimiento de antígeno de la especificidad requerida, incluidas las variantes de glicosilación de anticuerpos, variantes de secuencia de aminoácidos de anticuerpos y anticuerpos modificados covalentemente. Los anticuerpos y los fragmentos de unión a antígeno pueden ser de origen murino, de rata, humano o de cualquier otro origen (incluidos los anticuerpos quiméricos o humanizados). En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico, humanizado o humano. En ciertas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo humano. En ciertas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado.

Actividad biológica de los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$

Además de unirse a un epítipo en integrina $\alpha\beta 8$, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la invención puede mediar una actividad biológica. Es decir, la invención incluye un anticuerpo aislado, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a integrina $\alpha\beta 8$ y media al menos una actividad detectable seleccionada entre las siguientes:

- (i) se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ (ej., integrina $\alpha\beta 8$ de humano, ratón, mono *cynomolgus* y/o rata);
- (ii) reduce una interacción entre la integrina $\alpha\beta 8$ y el péptido asociado a la latencia (LAP);
- (iii) reduce la señalización de TGF- β ;
- (iv) bloquea eficazmente la activación de TGF β mediada por integrina $\alpha\beta 8$ con una CI₅₀ ≤ 10 nM;
- (v) tiene una K_d comparable (dentro de 5 veces) hacia un ortólogo de primates no humanos (NHP);

(vi) la selectividad se une a $\alpha\beta 8$ humano y no se une de manera detectable a un homólogo de $\alpha\beta 8$ (ej., $\alpha\beta 1$, $\alpha\beta 3$, $\alpha\beta 5$ y $\alpha\beta 6$);

(vii) provoca la supresión del crecimiento y/o la regresión completa del tumor en un modelo animal para un cáncer elegido entre carcinoma de células escamosas, cáncer de mama y cáncer de colon, solo o en combinación con un inmunomodulador, ej., moduladores de inhibidores de puntos de control, ej., inhibidores de PD-1, PD-L1, CTLA-4 o un agonista de una molécula estimulante, ej., 4-1BB;

(viii) provoca la supresión del crecimiento y/o la regresión completa del tumor en un modelo animal para un cáncer en combinación con una terapia contra el cáncer, ej., radioterapia;

(ix) muestra al menos un 60% de reducción en el crecimiento tumoral en un modelo de injerto tumoral singénico, ej., cuando se administra a $\leq 10\text{mg/kg}$;

(x) aumenta una respuesta antitumoral en presencia de uno o más inmunomoduladores, ej., un antagonista de un inhibidor de punto de control o un agonista de un activador de punto de control, ej., un antagonista de PD-1, PD-L1 o CTLA-4, o un activador de una respuesta inmune, ej., agonista 4-1BB, cuando se administra a un sujeto, ej., un ratón o un sujeto humano;

(xi) tiene una eficacia que no depende de la expresión de la integrina $\alpha\beta 8$ en un modelo tumoral;

(xii) Aumenta la abundancia de células T CD8⁺ GzmB⁺ en el microambiente tumoral, ej., como monoterapia;

(xiii) muestra una disminución, ej., una disminución de al menos > 80 %, en el crecimiento tumoral cuando se usa en combinación con un antagonista de un inhibidor de punto de control (ej., un anticuerpo anti-PD-1 o anti-PD-L1), ej., en un modelo singénico de carcinoma de células escamosas, cáncer de mama y/o cáncer de colon;

(xiv) muestra una mejora estadísticamente significativa en la supervivencia global de un sujeto, ej., un ser humano o un ratón, según se determina mediante un análisis de Kaplan-Meier;

(xv) muestra propiedades de formulación adecuadas, incluyendo un alto grado de estabilidad térmica y agregación mínima a alta concentración; o

(xvi) puede mostrar una expresión y pureza reproducibles en condiciones de fabricación a gran escala.

En algunas modalidades, los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$, o fragmentos de unión a antígeno del mismo, tienen al menos una de las siguientes propiedades:

- i. una afinidad de unión expresada como KD por la integrina $\alpha\beta 8$ humana que es menor que la KD del anticuerpo murino ADWA11, ej., menos de 536 pM (ej., 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 370, 400, 450, 500, 510, 520, 530, 531, 532, 533, 534 o 535 pM);
- ii. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ humana que es menor o igual a 100 pM (ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 pM), ej., para la integrina $\alpha\beta 8$ humana purificada;
- iii. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de ratón que es menor que la KD del anticuerpo murino ADWA11, ej., menos de 489 pM (ej., 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 370, 400, 450, 460, 470, 480, 485, 486, 487 o 488 pM);
- iv. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de mono *cynomolgus* que es menor que la KD del anticuerpo murino ADWA11, ej., menos de 507 pM (ej., 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 370, 400, 450, 500, 501, 502, 503, 504, 505 o 506 pM);
- v. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de rata que es aproximadamente 160 pM;
- vi. muestra aproximadamente una afinidad equivalente por al menos dos, tres o todas las integrinas $\alpha\beta 8$ de humano, *cynomolgus*, ratón y rata, ej., con una KD menor de 100 pM (ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 95 pM), por ejemplo, según se determina usando un ensayo de afinidad Biacore;
- vii. Una CI50 para inhibir la transactivación de TGF β que es menor que el anticuerpo murino ADWA11, ej., menos de 183 pM (ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 175, 180, 181 o 182 pM);
- viii. una CI50 para inhibir la transactivación de TGF β en células U251 de aproximadamente 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320 o 340 pM;
- ix. una EC50 para células U251 de aproximadamente 126 pM con una desviación estándar de más o menos 34 pM;
- x. una EC50 para células U251 de aproximadamente 256 pM con una desviación estándar de más o menos 115 pM;
- xi. una EC50 para células C8-S de aproximadamente 115 pM;

- xii. una EC50 para células C8-S de aproximadamente 145 pM con una desviación estándar de más o menos 23.7 pM;
- xiii. al menos un parámetro farmacocinético (PK) humano previsto elegido entre:

- 5 a. un aclaramiento del compartimento central (CL) de aproximadamente 0.12 - 0.15 ml/h/kg;
- b. un aclaramiento de distribución intercompartimental (CLF) de aproximadamente 0.15 - 0.51 ml/h/kg;
- 10 c. un volumen de distribución para el compartimento central (V1) de aproximadamente 36 - 39 ml/kg;
- d. un volumen de distribución para el compartimento periférico (V2) de aproximadamente 21 – 33 ml/kg; y/o
- e. una semivida terminal ($t_{1/2}$) de aproximadamente 12-17 días; o
- xiv. no muestra una unión detectable a los receptores Fcγ humanos o C1q.

15

En algunas modalidades, los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$, o fragmentos de unión a antígeno del mismo, se unen a células + de integrina $\alpha\beta 8$ (ej., células que expresan integrina $\alpha\beta 8$) con una afinidad aparente alta. La unión por afinidad aparente se puede evaluar usando citometría de flujo para detectar la unión del anticuerpo a las células que expresan la proteína objetivo (ej., integrina $\alpha\beta 8$). Las células pueden transfectarse de manera transitoria o estable con un ácido nucleico que codifica integrina $\alpha\beta 8$. Alternativamente, las células pueden ser células que expresan integrina $\alpha\beta 8$ naturalmente en su superficie. Independientemente de las fuentes de células+ de integrina $\alpha\beta 8$, la unión del anticuerpo a las células se puede evaluar fácilmente mediante el uso de una variedad de métodos reconocidos en la técnica. El anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se une a la integrina $\alpha\beta 8$ humana, la integrina $\alpha\beta 8$ de mono *cynomolgus*, la integrina $\alpha\beta 8$ de ratón, la integrina $\alpha\beta 8$ de rata.

La invención incluye un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$ y antagoniza una actividad mediada por la integrina $\alpha\beta 8$ (ej., la señalización de TGF β , que puede ser mediada al inhibir la interacción de la integrina $\alpha\beta 8$ con el péptido asociado a la latencia (LAP)). Existen muchos ensayos conocidos en la técnica para determinar la inhibición de una actividad mediada por la señalización de TGF β . Uno de estos ensayos es un ensayo

de transactivación de la vía TGF β . En un ejemplo de dicho ensayo, la expresión de SMAD, que puede servir como marcador de la activación de la vía y la señalización de TGF β , se monitoriza mediante el uso de un indicador de luciferasa. Por lo tanto, la capacidad del anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta 8$ para unirse a la integrina $\alpha\beta 8$ y antagonizar el efecto de la señalización TGF β (ej., inhibiendo la interacción de la integrina $\alpha\beta 8$ con LAP) se evalúa midiendo el nivel de SMAD expresado en presencia o ausencia de la anticuerpo. Preferiblemente, el anticuerpo puede mediar una disminución de la luciferasa dependiente de dosis con una EC50 de aproximadamente 1 pM, aproximadamente 2 pM, aproximadamente 3 pM, aproximadamente 4 pM, aproximadamente 5 pM, aproximadamente 6 pM, aproximadamente 7 pM, aproximadamente 8 pM, aproximadamente 9 pM, aproximadamente 10 pM, aproximadamente 20 pM, aproximadamente 30 pM, aproximadamente 40 pM, aproximadamente 50 pM, aproximadamente 60 pM, aproximadamente 70 pM, aproximadamente 80 pM, aproximadamente 90 pM, aproximadamente 100 pM, aproximadamente 125 pM, aproximadamente 150 pM, aproximadamente 175 pM, aproximadamente 200 pM, aproximadamente 225 pM, aproximadamente 250 pM, aproximadamente 275 pM, aproximadamente 300 pM, aproximadamente 400 pM o aproximadamente 500 pM (ej., una EC50 de entre aproximadamente 1 pM y aproximadamente 100 pM, ej., una EC50 de entre aproximadamente 1 pM y aproximadamente 200 pM, ej., una EC50 de entre aproximadamente 1 pM y aproximadamente 300 pM, ej., una EC50 de entre aproximadamente 1 pM y aproximadamente 400 pM, ej., una EC50 de entre aproximadamente 1 pM y aproximadamente 500 pM). Más preferiblemente, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, inhibe la señalización de TGF β (ej., transactivación de TGF β , ej., transactivación de TGF β de SMAD) con una EC50 de aproximadamente 100 pM (ej., una EC50 de entre aproximadamente 5 pM y aproximadamente 175 pM, ej., una EC50 de entre aproximadamente 25 pM y aproximadamente 175 pM, ej., una EC50 de aproximadamente 100 pM, aproximadamente 105 pM, aproximadamente 110 pM, aproximadamente 115 pM, aproximadamente 120 pM, aproximadamente 125 pM, aproximadamente 130 pM, aproximadamente 135 pM, aproximadamente 140 pM, aproximadamente 145 pM, aproximadamente 150 pM, aproximadamente 155 pM, aproximadamente 160 pM, aproximadamente 165 pM, aproximadamente 170 pM o aproximadamente 175 pM). En algunas modalidades, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, inhibe la señalización de TGF β (ej., transactivación de

TGF β , ej., transactivación de TGF β de SMAD) con una EC50 de menos de aproximadamente 5 nM (ej., menos de aproximadamente 0,001, 0,01, 0,1 , 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.1, 5.5, 6, 7, 8, 9, 10, 15 , 20 o 25 nM). En modalidades, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, inhibe la señalización de TGF β (ej., transactivación de TGF β , ej., transactivación de TGF β de SMAD) con una EC50 de aproximadamente 5 nM (ej., aproximadamente 0,001, 0,01, 0,1, 0,2, 0,3 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,1, 5,5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20 o 25 nM).

En algunas modalidades, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la presente divulgación inhibe la señalización de TGF β con una EC50 de aproximadamente 145 +/- 23.7 pM. En algunas modalidades, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la presente divulgación inhibe la señalización de TGF β en C8-S con una EC50 de aproximadamente 145 +/- 23.7 pM. En algunas modalidades, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la presente divulgación inhibe la señalización de TGF β en células C8-S con una EC50 de aproximadamente 110 pM a aproximadamente 180 pM.

En algunas modalidades, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la presente divulgación inhibe la señalización de TGF β con una EC50 de aproximadamente 256 +/- 115 pM. En algunas modalidades, un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la presente divulgación inhibe la señalización de TGF β en células U251 con una EC50 de aproximadamente 256 +/- 115 pM. En algunas modalidades, un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la presente divulgación inhibe la señalización de TGF β en células U251 con una EC50 de aproximadamente 80 pM a aproximadamente 400 pM.

La invención abarca un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a la integrina $\alpha\beta 8$ humana pero no se une de forma detectable a la integrina $\alpha\beta 3$, integrina $\alpha\beta 5$ o integrina $\alpha\beta 6$ de proteínas humanas.

III. EXPRESIÓN Y PRODUCCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-AVB8

Ácidos nucleicos que codifican anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$

La invención también proporciona polinucleótidos que codifican cualquiera de los anticuerpos, incluidos los fragmentos de anticuerpos y anticuerpos modificados descritos en este documento. La invención también proporciona un método para fabricar cualquiera de los polinucleótidos descritos en este documento. Los

polinucleótidos pueden prepararse y expresarse mediante procedimientos conocidos en la técnica.

La secuencia de un anticuerpo deseado, un fragmento de anticuerpo definido, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, y el ácido nucleico que codifica dicho anticuerpo, o fragmento del mismo, se puede determinar mediante el uso de técnicas de secuenciación estándar. Una secuencia de ácido nucleico que codifica un anticuerpo deseado, un fragmento de anticuerpo definido o un fragmento de unión a antígeno del mismo, puede insertarse en varios vectores (tales como vectores de clonación y expresión) para la producción y caracterización recombinante. Se puede clonar un ácido nucleico que codifica la cadena pesada, un fragmento de anticuerpo definido o fragmento de unión a antígeno de la cadena pesada, y un ácido nucleico que codifica la cadena ligera, un fragmento de anticuerpo definido o fragmento de unión a antígeno de la cadena ligera, en el mismo vector o diferentes vectores.

El polinucleótido que codifica las secuencias de aminoácidos anteriores codifica una secuencia de aminoácidos al menos un 80%. 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99%, y más preferiblemente idéntica a la secuencia de aminoácidos de los anticuerpos o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la presente invención como se describe en el presente documento.

En algunas modalidades, la invención proporciona polinucleótidos que codifican una o más proteínas que comprenden la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEC ID NO: 2, 3 y 5-76 (ej., un polinucleótido que comprende una secuencia expuesta en la SEC ID NO: 1, 4, 183, 185, 186, 189, 190 o 191), o una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95 %, 96%, 97%, 98% o 99%, y más preferiblemente idéntica a las SEC ID NO: 2, 3, 5-76, 88-93, 123, 124 y 182.

La invención proporciona polinucleótidos que comprenden la secuencia de ácido nucleico como se establece en una o más de las SEC ID N°: 1, 183, 189 o 191 y que codifican una cadena pesada de anticuerpo o una secuencia de nucleótidos al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98 %, o 99%, o idéntica a las SEC ID NO: 1, 183, 189 o 191 y que codifican una cadena pesada de anticuerpos.

La invención proporciona polinucleótidos que comprenden la secuencia de ácido nucleico como se establece en una o más de las SEC ID N°: 4 o 185 y que codifican una cadena ligera de anticuerpo o una secuencia de nucleótidos al menos 80%, 85%,

90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99 %, o idéntica a las SEC ID NO: 4 o 185 y que codifican una cadena ligera de anticuerpo.

5 La invención proporciona polinucleótidos que comprenden la secuencia de ácido nucleico como se establece en la SEC ID NO: 190 y que codifican una región variable de cadena pesada de anticuerpo, o una secuencia de nucleótidos al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99%, o idéntica a la SEC ID NO: 190 y que codifican una región variable de cadena pesada de anticuerpo.

10 La invención proporciona polinucleótidos que comprenden la secuencia de ácido nucleico como se establece en la SEC ID NO: 186 y que codifican una región variable de cadena ligera de anticuerpo, o una secuencia de nucleótidos al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99%, o idéntica a la SEC ID NO: 186 y que codifican una región variable de cadena ligera de anticuerpo.

15 La invención proporciona polinucleótidos que comprenden la secuencia de ácido nucleico como se establece en la SEC ID NO: 192 o 193 y que codifican una región constante de cadena pesada de anticuerpo, o una secuencia de nucleótidos al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% , o 99%, o idéntica a la SEC ID NO: 192 o 193 y que codifican una región constante de cadena pesada de anticuerpo.

20 La invención proporciona polinucleótidos que comprenden la secuencia de ácido nucleico como se establece en la SEC ID NO: 194 y que codifican una región constante de cadena ligera de anticuerpo, o una secuencia de nucleótidos al menos 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99%, o idéntica a la SEC ID NO: 194 y que codifican una región constante de cadena ligera de anticuerpo.

25 La invención proporciona un polinucleótido que comprende la secuencia de ácido nucleico como se establece en la SEQ ID NO: 189. La invención proporciona un polinucleótido que comprende la secuencia de ácido nucleico como se establece en la SEQ ID NO: 190. La invención proporciona un polinucleótido que comprende la secuencia de ácido nucleico como se establece en la SEQ ID NO: 185.

30 La invención proporciona un polinucleótido que comprende una o ambas secuencias de ácido nucleico del inserto de ADN del plásmido depositado con la ATCC y que tiene el Número de Acceso PTA-124917 y/o el Número de Acceso PTA-124918.

La invención proporciona un polinucleótido que comprende la secuencia de ácido nucleico del inserto en el plásmido depositado con la ATCC y que tiene el Número de Acceso PTA-124917 y/o el Número de Acceso PTA-124918.

La invención proporciona células que comprenden una o más moléculas de ácido nucleico como se establece en las SEC ID No: 1, 183 y 4.

La invención proporciona células que comprenden una o más moléculas de ácido nucleico como se exponen en las SEC ID NO: 185, 189 y 190.

5

En otro aspecto, la invención proporciona polinucleótidos y variantes de los mismos que codifican un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta 8$ (ej., un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta 8$ de humano), en donde dichos polinucleótidos variantes comparten al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 87%,
10 al menos el 89%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98% o al menos el 99% de identidad de secuencia con cualquiera de las secuencias de ácido nucleico específicas descritas en el presente documento. Estas cantidades no están destinadas a ser limitantes, y los incrementos entre los porcentajes citados se
15 prevén específicamente como parte de la divulgación.

La invención proporciona polipéptidos codificados por las moléculas de ácido nucleico descritas en este documento.

En una modalidad, los dominios de VH y VL, o fragmento de unión a antígeno de los mismos, o HC o LC de longitud completa, están codificados por polinucleótidos
20 separados. Alternativamente, tanto VH como VL, o el fragmento de unión a antígeno de los mismos, o HC y LC, están codificados por un único polinucleótido.

Los polinucleótidos complementarios a cualquiera de tales secuencias también están contemplados por la presente descripción. Los polinucleótidos pueden ser monocatenarios (codificantes o antisentido) o bicatenarios, y pueden ser moléculas de
25 ADN (genómico, ADNc o sintéticos) o moléculas de ARN. Las moléculas de ARN incluyen moléculas de ARNHn, que contienen intrones y corresponden a una molécula de ADN en una manera uno a uno, y moléculas de ARNm, que no contienen intrones. Secuencias codificantes o no codificantes adicionales pueden estar presentes, pero no es necesario, dentro de un polinucleótido de la presente descripción, y un polinucleótido
30 puede estar unido, aunque no necesariamente, a otras moléculas y/o materiales de soporte.

Los polinucleótidos pueden comprender una secuencia nativa (es decir, una secuencia endógena que codifica un anticuerpo o un fragmento del mismo) o pueden comprender una variante de dicha secuencia. Las variantes de polinucleótidos

contienen una o más sustituciones, adiciones, deleciones y/o inserciones de tal manera que la inmunorreactividad del polipéptido codificado no disminuye, con respecto a una molécula inmunorreactiva no modificada. El efecto sobre la inmunorreactividad del polipéptido codificado generalmente se puede evaluar como se describe en este documento. En algunas modalidades, las variantes exhiben al menos aproximadamente 70% de identidad, en algunas modalidades, al menos aproximadamente 80% de identidad, en algunas modalidades, al menos aproximadamente 90% de identidad, y en algunas modalidades, al menos aproximadamente 95% de identidad con una secuencia de polinucleótidos que codifica un anticuerpo nativo o un fragmento del mismo. Estas cantidades no están destinadas a ser limitantes, y los incrementos entre los porcentajes citados se prevén específicamente como parte de la divulgación.

Se dice que dos secuencias polinucleotídicas o polipeptídicas son "idénticas" si la secuencia de nucleótidos o aminoácidos en las dos secuencias es la misma cuando se alinean para una correspondencia máxima como se describe a continuación. Las comparaciones entre dos secuencias se realizan típicamente comparando las secuencias en una ventana de comparación para identificar y comparar las regiones locales de similitud de secuencia. Una "ventana de comparación" como se usa en este documento, se refiere a un segmento de al menos aproximadamente 20 posiciones contiguas, habitualmente de 30 a aproximadamente 75, o de 40 a aproximadamente 50, en la que una secuencia puede compararse con una secuencia de referencia del mismo número de posiciones contiguas después de que las dos secuencias estén alineadas de manera óptima.

La alineación óptima de secuencias para comparación puede realizarse utilizando el programa MegAlign[®] en el paquete de software de bioinformática Lasergene[®] (DNASTAR[®] Inc., Madison, WI), utilizando parámetros por defecto. Este programa incorpora varios esquemas de alineamiento descritos en las siguientes referencias: Dayhoff, M.O., 1978, A model of evolutionary change in proteins - Matrices for detecting distant relationships. En Dayhoff, M.O. (ed.) Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, Washington DC Vol. 5, Suppl. 3, páginas 345-358; Hein J., 1990, Unified Approach to Alignment and Phylogenesis, páginas 626-645 Methods in Enzymology vol. 183, Academic Press, Inc., San Diego, CA; Higgins, D.G. y Sharp, P.M., 1989, CABIOS 5:151-153; Myers, E.W. y Muller W., 1988, CABIOS 4:11-17; Robinson, E.D., 1971, Comb. Theor. 11:105; Santou, N., Nes, M., 1987, Mol. Biol. Evol. 4:406-425; Sneath, P.H.A. y Sokal, R.R., 1973, Numerical

Taxonomy the Principles and Practice of Numerical Taxonomy, Freeman Press, San Francisco, CA; Wilbur, W.J. y Lipman, D.J., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:726-730.

En algunas modalidades, el "porcentaje de identidad de secuencia" se determina comparando dos secuencias óptimamente alineadas en una ventana de comparación de al menos 20 posiciones, donde la porción de la secuencia de polinucleótido o polipéptido en la ventana de comparación puede comprender adiciones o deleciones (es decir, brechas) del 20 por ciento o menos, usualmente del 5 al 15 por ciento, o del 10 al 12 por ciento, en comparación con las secuencias de referencia (que no comprende adiciones o deleciones) para la alineación óptima de las dos secuencias. El porcentaje se calcula determinando el número de posiciones en las que se encuentran bases de ácido nucleico idénticas o residuos de aminoácidos en ambas secuencias para obtener el número de posiciones coincidentes, dividiendo el número de posiciones coincidentes por el número total de posiciones en la secuencia de referencia (es decir, el tamaño de la ventana) y multiplicando los resultados por 100 para obtener el porcentaje de identidad de secuencia.

Las variantes pueden también, o alternativamente, ser sustancialmente homólogas a un gen nativo, o una porción o complemento del mismo. Dichas variantes de polinucleótidos son capaces de hibridarse en condiciones moderadamente estrictas con una secuencia de ADN que se produce naturalmente que codifica un anticuerpo nativo (o una secuencia complementaria).

"Condiciones moderadamente restrictivas" adecuadas incluyen prelavado en una solución de 5X SSC, 0,5% de SDS, 1,0 mM de EDTA (pH 8,0); hibridando a 50 °C - 65 °C, 5X SSC, durante la noche; seguido de un lavado dos veces a 65 °C durante 20 minutos con cada uno de 2X, 0.5X y 0.2X SSC que contiene 0.1% de SDS.

Como se usa en el presente documento, "condiciones muy estrictas" o "condiciones de alta rigurosidad" son aquellas que: (1) emplean baja fuerza iónica y alta temperatura para el lavado, por ejemplo, cloruro sódico 0.015 M/citrato sódico 0,0015 M/dodecilsulfato sódico al 0,1% a 50 °C; (2) emplean un agente desnaturalizante durante la hibridación, como formamida, por ejemplo, formamida al 50% (v/v) con albúmina de suero bovino al 0,1%/Ficoll al 0,1%/polivinilpirrolidona al 0,1%/buffer de fosfato de sodio 50 mM a pH 6,5 con cloruro sódico 750 mM, citrato sódico 75 mM a 42 °C; o (3) emplean formamida al 50%, 5X SSC (NaCl 0.75 M, citrato de sodio 0.075 M), fosfato de sodio 50 mM (pH 6.8), pirofosfato de sodio al 0.1%, 5X solución de Denhardt,

ADN de espermatozoides de salmón sonicado (50 µg/mL), 0.1% SDS, y 10% de sulfato de dextrano a 42 °C, con lavados a 42 °C en 0.2X SSC (cloruro de sodio/citrato de sodio) y 50% de formamida a 55 °C, seguido por un lavado de alta rigurosidad que consiste en 0.1X SSC que contiene EDTA a 55 °C. El experto en la materia reconocerá cómo
5 ajustar la temperatura, la fuerza iónica, etc. según sea necesario para acomodar factores tales como la longitud de la sonda y similares.

Los expertos en la técnica apreciarán que, como resultado de la degeneración del código genético, existen muchas secuencias de nucleótidos que codifican un polipéptido como se describe en el presente documento. Algunos de estos
10 polinucleótidos tienen una homología mínima con la secuencia de nucleótidos de cualquier gen nativo. No obstante, los polinucleótidos que varían debido a las diferencias en el uso de codones se contemplan específicamente en la presente descripción. Además, los alelos de los genes que comprenden las secuencias de polinucleótidos proporcionadas en la presente están dentro del alcance de la presente
15 descripción. Los alelos son genes endógenos que se alteran como resultado de una o más mutaciones o alteraciones, tales como deleciones, adiciones y/o sustituciones de nucleótidos. El ARNm y la proteína resultante pueden, pero no necesitan, tener una estructura o función alterada. Los alelos se pueden identificar usando técnicas estándar (tales como hibridación, amplificación y/o comparación de secuencia de base de datos).

Los polinucleótidos de esta descripción se pueden obtener usando síntesis química, métodos recombinantes o PCR. Los métodos de síntesis de polinucleótidos químicos son bien conocidos en la técnica y no necesitan describirse en detalle en este documento. Un experto en la técnica puede usar las secuencias proporcionadas en este documento y un sintetizador de ADN comercial para producir una secuencia de
20 ADN deseada.

Para preparar polinucleótidos usando métodos recombinantes, se puede insertar un polinucleótido que comprende una secuencia deseada en un vector adecuado, y el vector a su vez se puede introducir en una célula huésped adecuada para la replicación y amplificación, como se analiza adicionalmente en el presente documento. Los
30 polinucleótidos se pueden insertar en células huésped mediante cualquier medio conocido en la técnica. Las células se transforman introduciendo un polinucleótido exógeno por captación directa, endocitosis, transfección, apareamiento F o electroporación. Una vez introducido, el polinucleótido exógeno se puede mantener dentro de la célula como un vector no integrado (tal como un plásmido) o integrado en

el genoma de la célula huésped. El polinucleótido así amplificado se puede aislar de la célula huésped mediante métodos bien conocidos dentro de la técnica. Véase, ej., Sambrook, 1989.

Alternativamente, PCR permite la reproducción de secuencias de ADN. La tecnología de PCR es bien conocida en la técnica y se describe en las patentes de los Estados Unidos Nos. 4.683.195, 4.800.159, 4.754.065 y 4.683.202, así como en PCR: *The Polymerase Chain Reaction*, Mullis, eds., Birkauser Press, Boston, 1994.

El ARN se puede obtener usando el ADN aislado en un vector apropiado y insertándolo en una célula huésped adecuada. Cuando la célula se replica y el ADN se transcribe en ARN, el ARN puede luego aislarse usando métodos bien conocidos por los expertos en la técnica, como se expone en Sambrook, 1989, por ejemplo.

En algunas modalidades, un primer vector comprende un polinucleótido que codifica una cadena pesada y un segundo vector comprende un polinucleótido que codifica una cadena ligera. En algunas modalidades, el primer vector y el segundo vector se transfectan en células huésped en cantidades similares (tales como cantidades molares similares o cantidades de masa similares). En algunas modalidades, una proporción molar o de masa de entre 5: 1 y 1:5 del primer vector y el segundo vector se transfecta en células huésped. En algunas modalidades, se utiliza una relación de masa de entre 1: 1 y 1:5 para el vector que codifica la cadena pesada y el vector que codifica la cadena ligera. En algunas modalidades, se usa una relación de masa de 1: 2 para el vector que codifica la cadena pesada y el vector que codifica la cadena ligera.

Vectores

En algunas modalidades, se selecciona un vector que está optimizado para la expresión de polipéptidos en células CHO o derivadas de CHO, o en células NSO. Tales vectores de ejemplo se describen, ej., en Running Deer, Biotechnol. Prog. 20:880-889 (2004).

Vectores de clonación y expresión adecuados pueden incluir una variedad de componentes, tales como secuencias promotoras, potenciadoras y otras secuencias reguladoras de la transcripción. El vector también puede construirse para permitir la posterior clonación de un dominio variable de anticuerpo en diferentes vectores. Los vectores de clonación adecuados se pueden construir de acuerdo con técnicas estándar, o se pueden seleccionar a partir de un gran número de vectores de clonación

disponibles en la técnica. Aunque el vector de clonación seleccionado puede variar de acuerdo con la célula huésped que se pretende usar, los vectores de clonación útiles generalmente tendrán la capacidad de autorreplicarse, puede poseer un único objetivo para una endonucleasa de restricción particular y/o puede llevar genes para un

5 marcador que se puede usar para seleccionar clones que contengan el vector.

Ejemplos adecuados incluyen plásmidos y virus bacterianos, ej., pUC18, pUC19, Bluescript (ej., pBS SK+) y sus derivados, mp18, mp19, pBR322, pMB9, ColE1, pCR1, RP4, ADN de fagos y vectores de lanzadera tales como pSA3 y pAT28 . Estos y muchos otros vectores de clonación están disponibles en proveedores comerciales

10 tales como BioRad, Strategene e Invitrogen. Se proporcionan además vectores de expresión. Los vectores de expresión generalmente son constructos de polinucleótidos replicables que contienen un polinucleótido de acuerdo con la descripción. Se da a

entender que un vector de expresión debe ser replicable en las células huésped bien sea como episomas o como parte integral del ADN cromosómico. Vectores de

15 expresión adecuados incluyen, pero no se limitan a, plásmidos, vectores víricos, incluyendo adenovirus, virus adeno-asociado, retrovirus, cósmidos y vectores de expresión descritos en la Publicación PCT N° WO 87/04462. Componentes del vector generalmente pueden incluir, pero no se limitan a, uno o más de los siguientes: una secuencia de señal; un origen de replicación; uno o más genes marcadores; elementos

20 de control transcripcional adecuados (tales como promotores, potenciadores y terminador). Para la expresión (es decir, traducción), normalmente se requieren uno o más elementos de control de traducción, tales como sitios de unión a ribosomas, sitios de iniciación de traducción y codones de parada.

Los vectores que contienen los polinucleótidos de interés y/o los polinucleótidos

25 mismos pueden introducirse en la célula huésped mediante cualquiera de varios medios apropiados, incluyendo electroporación, transfección empleando cloruro de calcio, cloruro de rubidio, fosfato de calcio, DEAE-dextrano o otras sustancias; bombardeo de microproyectiles; lipofección; e infección (ej., cuando el vector es un agente infeccioso como el virus vaccinia). La elección de introducir vectores o polinucleótidos a menudo

30 dependerá de las características de la célula huésped.

Células huésped

El anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, puede prepararse recombinantemente usando una célula huésped adecuada. Un ácido nucleico que

codifica el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo puede clonarse en un vector de expresión, que luego puede introducirse en una célula huésped, tal como una célula de E. coli, una célula de levadura, una célula de insecto, una célula COS de simio, una célula de ovario de hámster chino (CHO), o una célula de mieloma donde la célula no produce una proteína de inmunoglobulina, para obtener la síntesis de un anticuerpo en la célula huésped recombinante. Células huésped preferidas incluyen una célula CHO, una célula 293 de riñón embrionario humano HEK o una célula Sp2.0, entre muchas células bien conocidas en la técnica. Se puede producir un fragmento de anticuerpo por degradación proteolítica u otra de un anticuerpo de longitud completa, por métodos recombinantes o por síntesis química. Un fragmento de polipéptido de un anticuerpo, especialmente polipéptidos más cortos de hasta aproximadamente 50 aminoácidos, puede prepararse convenientemente mediante síntesis química. Los métodos de síntesis química para proteínas y péptidos son conocidos en la técnica y están disponibles comercialmente.

En diversas modalidades, las cadenas pesadas de integrina anti- $\alpha\beta 8$ y/o las cadenas ligeras de integrina anti- $\alpha\beta 8$ pueden expresarse en células procariotas, tales como células bacterianas; o en células eucariotas, tales como células de hongos (como levadura), células vegetales, células de insectos y células de mamíferos. Dicha expresión puede llevarse a cabo, por ejemplo, de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica. Las células eucariotas ejemplares que pueden usarse para expresar polipéptidos incluyen, pero sin limitación, células COS, que incluyen células COS 7; células 293, incluidas las células 293-6E; células CHO, incluidas CHO-S, DG44. Células Lec13 CHO y células FUT8 CHO; células PER.C6® (Crucell); y células NSO. En algunas modalidades, las cadenas pesadas de integrina anti- $\alpha\beta 8$ y/o las cadenas ligeras de integrina anti- $\alpha\beta 8$ pueden expresarse en levadura. Véase, ej, la Publication EE.UU. No. US 2006/0270045 A1. En algunas modalidades, se selecciona una célula huésped eucariota particular basándose en su capacidad para realizar las modificaciones postraduccionales deseadas en las cadenas pesadas de integrina anti- $\alpha\beta 8$ y/o cadenas ligeras de integrina anti- $\alpha\beta 8$. Por ejemplo, en algunas modalidades, las células CHO producen polipéptidos que tienen un mayor nivel de sialilación que el mismo polipéptido producido en las células 293.

La introducción de uno o más ácidos nucleicos en una célula huésped deseada se puede lograr mediante cualquier método, que incluye, entre otros, transfección con fosfato de calcio, transfección mediada por DEAE-dextrano, transfección mediada por

lípidos catiónicos, electroporación, transducción, infección, etc. Métodos ejemplares no limitantes se describen, por ejemplo, en Sambrook, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001). Los ácidos nucleicos pueden transfectarse de manera transitoria o estable en las células huésped deseadas, de acuerdo con cualquier método adecuado.

Los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$ pueden purificarse mediante cualquier método adecuado. Dichos métodos incluyen, pero no se limitan a, el uso de matrices de afinidad o cromatografía de interacción hidrófoba. Los ligandos de afinidad adecuados incluyen ligandos que se unen a regiones constantes de anticuerpos. Por ejemplo, una proteína A, Proteína G, Proteína A/G, o una columna de afinidad de anticuerpos puede usarse para unir la región constante y purificar un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$. La cromatografía interactiva hidrófoba, por ejemplo, una columna de butilo o fenilo, también puede ser adecuada para purificar algunos polipéptidos. Muchos métodos de purificación de polipéptidos son conocidos en la técnica.

En algunas modalidades, se produce un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$ en un sistema libre de células. Se describen sistemas libres de células ejemplares no limitantes, por ejemplo, en Sitaraman, Methods Mol. Biol. 498: 229-44 (2009); Spirin, Trends Biotechnol. 22: 538-45 (2004); Endo, Biotechnol. Adv. 21: 695-713 (2003).

IV. USOS Y TERAPIAS MÉDICAS

Usos Terapéuticos

En algunos aspectos, la invención proporciona métodos terapéuticos para inhibir la actividad de la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ mediante el uso de un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$ o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde los métodos terapéuticos comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$ o fragmento de unión a antígeno del mismo. El trastorno tratado es cualquier enfermedad o afección que se mejora, alivia, inhibe o previene mediante la eliminación, inhibición o reducción de la actividad o señalización de la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$. En particular, los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$ de la invención, incluidos los anticuerpos humanizados y quiméricos, pueden usarse en la prevención, tratamiento y/o mejora de enfermedades, trastornos o afecciones causadas por y/o asociadas con la actividad aberrante de integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ (ej., aumento) y/o la señalización de TGF β en un sujeto (ej., dentro del microambiente tumoral de un sujeto que tiene un cáncer). En algunas modalidades, la enfermedad,

trastorno o afección comprende una afección respiratoria (ej., asma), fibrosis o anemia. En algunas modalidades, la enfermedad, trastorno o afección se puede tratar o prevenir con una vacuna.

En algunos aspectos, la invención proporciona un método para la inhibición selectiva de la activación de TGF β latente dependiente de $\alpha\beta$ 8 en células en el microambiente tumoral que incluye, por ejemplo, células dendríticas, células T reguladoras, macrófagos asociados a tumores y/o células del tumor en sí. Sin estar ligado a ninguna teoría en particular, un antagonismo más preciso y selectivo de la activación de TGF β dentro del sistema inmunológico y/o el microambiente tumoral mediado por la administración de un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta$ 8 de la invención puede contribuir a una respuesta inmune anti-tumoral en un sujeto sin perturbar las funciones homeostáticas más amplias del TGF β . Se puede esperar que tal respuesta inmune anti-tumoral en un sujeto que no perturbe las funciones homeostáticas más amplias del TGF β □proporcione seguridad y ventajas terapéuticas sobre la inhibición sistémica del TGF β .

Los métodos proporcionados en el presente documento también pueden usarse para reducir y/o atenuar la actividad de TGF β □ (ej., actividad promotora de tumores TGF β □) en un sujeto (ej., dentro de un microambiente tumoral de un sujeto que tiene un cáncer). Las □actividades de TGF β que influyen en la angiogénesis, metástasis, transición epitelial-mesenquimal y/o la supresión de células inmunitarias infiltrantes (ej., linfocitos tumorales infiltrantes, ej., células T, células B, células asesinas naturales, macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, mastocitos, eosinófilos, y basófilos) dentro de un microambiente tumoral puede reducirse y/o atenuarse mediante la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta$ 8 de la invención a un sujeto (por ejemplo, un sujeto que tiene cáncer).

En algunos casos, la administración de un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta$ 8, o un fragmento del mismo que se une al antígeno, a un sujeto que tiene un cáncer aumenta la cantidad (por ejemplo, la densidad determinada por un análisis inmunohistoquímico (IHC)) de las células inmunes infiltrantes, ej., linfocitos totales CD45 y células mieloides, células T CD3, células T CD4, células T CD8 y células que expresan granzima B (ej., células CD8 y NK activadas), en una muestra de tumor (ej., Una muestra de tumor sólido) adquirida del sujeto . Un aumento en la cantidad (ej., densidad) de células inmunes infiltrantes puede determinarse, por ejemplo, mediante análisis inmunohistoquímico (IHC) de una muestra de tumor (ej., una muestra de tumor sólido)

adquirida de un sujeto que tiene un cáncer en comparación con el cantidad (ej., densidad) de células inmunes infiltrantes adquiridas de una muestra de tumor de referencia (ej., una muestra de tumor obtenida del mismo sujeto o de un sujeto diferente que tiene un cáncer similar, donde la muestra de tumor se adquirió antes de una administración (ej., un primera administración, o una administración posterior) de un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo).

En un aspecto, la invención se refiere al tratamiento de un sujeto in vivo usando un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, de manera que se inhibe o reduce el crecimiento de tumores cancerosos. En algunas modalidades, un sujeto tratado in vivo utilizando un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tiene un cáncer primario, por ejemplo, un cáncer localmente avanzado. En algunas modalidades, un sujeto tratado in vivo usando un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, tiene un cáncer recurrente, por ejemplo, un cáncer metastásico.

En un aspecto, la invención se refiere al tratamiento in vivo de un sujeto que tiene un cáncer, o tumor, que expresa integrina $\alpha\text{v}\beta 8$, integrina $\beta 8$ (ITG $\beta 8$) y / o integrina αV (ITG αV) usando un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o antígeno-fragmento de unión del mismo. En algunas modalidades, la expresión de la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$, $\beta 8$ y / o la integrina αV es la expresión de una proteína. En algunas modalidades, la expresión de la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$, $\beta 8$ y / o la integrina αV es expresión de ARNm. En algunas modalidades, la expresión de la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$, $\beta 8$ y / o la integrina αV aumenta la expresión en relación con un nivel de expresión de la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$, $\beta 8$ y / o la integrina αV en un tejido o muestra normal, en un tejido o muestra de control, en un tejido. o muestra antes del tratamiento y / o un tejido o muestra después del tratamiento. En una modalidad, un tejido o muestra que se usa para determinar los niveles de expresión relativa de la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$, $\beta 8$ y / o la integrina αV se puede obtener de un sujeto con cáncer o tumor, de un sujeto diferente que tenga el mismo tipo de cáncer o tumor o una diferente tipo de cáncer o tumor o de un sujeto sin cáncer o tumor.

En algunas modalidades, la expresión del ARNm de la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$, $\beta 8$ y / o la integrina αV es una expresión aumentada en relación con un nivel de expresión en un tejido o muestra normal, en un tejido o muestra de control, en un tejido o muestra antes del tratamiento y / o un tejido o muestra después del tratamiento. En algunas modalidades, la expresión de ARNm de la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$, $\beta 8$ y/o integrina αV aumenta

aproximadamente un 5%, aproximadamente un 10%, aproximadamente un 20%,
aproximadamente un 30%, aproximadamente un 40%, aproximadamente un 50%,
aproximadamente un 60%, aproximadamente un 70% , aproximadamente un 80%,
aproximadamente un 90%, aproximadamente un 100%, aproximadamente un 150%,
5 aproximadamente un 200%, aproximadamente un 300%, aproximadamente un 400%,
aproximadamente un 500% con respecto al nivel de expresión del ARNm de la integrina
 $\alpha\beta8$, $\beta8$ y/o integrina αV en un tejido o muestra normal, en un tejido o muestra de
control, en un tejido o muestra antes del tratamiento y/o un tejido o muestra después
del tratamiento.

10 Un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta8$, o un fragmento de unión a antígeno del
mismo, puede usarse solo (ej., como monoterapia) para inhibir el crecimiento de un
tumor canceroso. Alternativamente, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta8$, o fragmento
de unión a antígeno del mismo, puede usarse en combinación con uno o más de: un
tratamiento estándar de atención (ej., para cánceres o trastornos infecciosos), otro
15 anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, un inmunomodulador (ej., un
activador de una molécula coestimuladora o un inhibidor de una molécula inhibidora);
una vacuna, ej., una vacuna terapéutica contra el cáncer; u otras formas de
inmunoterapia celular.

Por consiguiente, en una modalidad, la invención proporciona un método para
20 inhibir el crecimiento de células tumorales en un sujeto, que comprende administrar al
sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta8$, o
fragmento de unión a antígeno del mismo, descrito en el presente documento.

En una modalidad, los métodos son adecuados para el tratamiento de cáncer *in vivo*. Para lograr el aumento de la inmunidad, el anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta8$, o
25 fragmento de unión a antígeno del mismo, se puede administrar junto con un antígeno
de interés. Cuando el anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta8$, o fragmento de unión a
antígeno del mismo, se administra en combinación con uno o más agentes, la
combinación puede administrarse en cualquier orden o simultáneamente.

En otro aspecto, se proporciona un método de tratamiento de un sujeto, por
30 ejemplo, que reduce o mejora, una condición o trastorno hiperproliferativo (por ejemplo,
un cáncer), por ejemplo, tumor sólido, un cáncer hematológico, tumor de tejido blando,
o una lesión metastásica, en un sujeto. El método incluye administrar al sujeto uno o
más anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta8$, o fragmentos de unión a antígeno de los
mismos, descritos en el presente documento, solos o en combinación con otros agentes

o modalidades terapéuticas. En algunas modalidades, el anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta 8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la invención se puede administrar como terapia de primera línea en sujetos sin tratamiento previo, o como terapia de segunda línea después de, por ejemplo, una recaída o progresión del cáncer.

5 Los cánceres de ejemplo cuyo crecimiento puede tratarse, ej., reducirse, usando las moléculas de anticuerpos descritas en este documento incluyen cánceres que responden típicamente a la inmunoterapia. Los ejemplos no limitantes de cánceres para el tratamiento incluyen melanoma (ej., melanoma maligno metastásico, melanoma cutáneo de piel), cáncer de células renales (CCR) (ej., carcinoma de células claras, carcinoma de células papilares), cáncer de próstata (ej., adenocarcinoma de próstata resistente a hormonas), cáncer de mama, cáncer de ovario (ej., cáncer de ovario epitelial, cáncer de trompas de Falopio o peritoneal primario), cáncer de cabeza y cuello (ej., carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (SCCHN)), cáncer de colon, cáncer de esófago (ej., adenocarcinoma y carcinoma de células escamosas), cáncer gástrico (ej., adenocarcinoma de unión gástrica y gastroesofágica), cáncer de páncreas (ej., adenocarcinoma ductal pancreático), cáncer de vías biliares (ej., colangiocarcinoma); cáncer de endometrio (ej., carcinoma de endometrio del cuerpo uterino), carcinoma urotelial y cáncer de pulmón (ej., cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de células escamosas). Además, las neoplasias malignas refractarias o recurrentes pueden ser tratadas utilizando las moléculas de anticuerpo descritas en la presente.

Ejemplos de otros cánceres que pueden tratarse incluyen cáncer de hueso, melanoma maligno cutáneo o intraocular, cáncer de recto, cáncer de ano, cáncer de testículo, carcinoma de cuello uterino, carcinoma de vagina, carcinoma de vulva, cáncer de células de Merkel, linfoma de Hodgkin, no -Linfoma de Hodgkin, cáncer del intestino delgado, cáncer del sistema endocrino, cáncer de la glándula tiroides, cáncer de la glándula paratiroidea, cáncer de la glándula suprarrenal, sarcoma de tejidos blandos, cáncer de uretra, cáncer de pene, crónico o leucemias agudas que incluyen leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, tumores sólidos de la infancia, linfoma linfocítico, cáncer de vejiga, mieloma múltiple, síndromes mielodisplásicos, cáncer de riñón o de uréter, carcinoma de riñón pelvis, neoplasia del sistema nervioso central (SNC), linfoma primario del SNC, angiogénesis tumoral, tumor del eje espinal, glioma del tronco encefálico, adenoma hipofisario, sarc de Kaposi oma, cáncer epidermoide, cáncer de células escamosas,

linfoma de células T, cánceres inducidos por el medio ambiente, incluidos los inducidos por asbesto (por ejemplo, mesotelioma) y combinaciones de dichos cánceres. En algunas modalidades, el cáncer se elige entre un carcinoma de células renales, un cáncer de ovario, un carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello y un cáncer de piel (ej., un melanoma, ej., un melanoma avanzado).

En algunos casos, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en un tumor sólido, un cáncer hematológico (ej., leucemia, linfoma, mieloma, ej., mieloma múltiple) y una lesión metastásica. El cáncer puede ser un tumor sólido, por ejemplo, un tumor sólido como una neoplasia maligna, ej., sarcomas y carcinomas, ej., adenocarcinomas de los diversos sistemas de órganos, tales como los que afectan al pulmón (ej., un cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC)), mama, ovario, linfode, gastrointestinal (ej., colon), anal, genitales y del tracto genitourinario (ej., renal, urotelial, células de la vejiga, próstata), faringe, SNC (ej., cerebro, neural o células gliales), cabeza y cuello (ej., carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), piel (ej., melanoma, ej., un melanoma avanzado), páncreas, colon, recto, renal (ej., un carcinoma de células renales), hígado, cáncer de intestino delgado y cáncer de esófago, cáncer gastroesofágico, cáncer de tiroides y cáncer de cuello uterino. En algunos casos, el cáncer puede ser una enfermedad linfoproliferativa (ej., una enfermedad linfoproliferativa postrasplante) o un cáncer hematológico, linfoma de células T, linfoma de células B, linfoma no Hodgkin o una leucemia (ej., una leucemia mieloide o leucemia linfode). En algunos casos, el cáncer es un cáncer en estadio temprano, intermedio, tardío o metastásico. En casos particulares, el cáncer es un carcinoma de células renales, un cáncer de ovario o un carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello.

En otras modalidades, el cáncer es una neoplasia hematológica o cáncer que incluye, pero no se limita a una leucemia o un linfoma. Por ejemplo, el anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 3$, o fragmento de unión a antígeno del mismo, puede usarse para tratar cánceres y tumores malignos que incluyen, pero no se limitan a, ej., leucemias agudas, que incluyen pero no se limitan a, por ejemplo, leucemia linfode aguda de células B ("BALL"), leucemia linfode aguda de células T ("TALL"), leucemia linfode aguda (ALL); una o más leucemias crónicas incluyendo, pero no limitado a, por ejemplo, leucemia mielógena crónica (CML), leucemia linfocítica crónica (CLL); cánceres hematológicos adicionales o condiciones hematológicas incluyendo, pero no limitado a, por ejemplo, leucemia prolinfocítica de células B, neoplasia blástica

plasmocitoide de células dendríticas, linfoma de Burkitt, linfoma difuso de células B grandes, linfoma folicular, leucemia de células pilosas, linfoma de células foliculares grandes o pequeñas, condiciones de linfoproliferativos malignos, linfoma MALT, linfoma de células del manto, linfoma de la zona marginal, mieloma múltiple, mielodisplasia y el
5 síndrome mielodisplásico, linfoma no Hodgkin, linfoma plasmablastico, neoplasia de células dendríticas plasmacitoides, macroglobulinemia Waldenstrom, y "pre-leucemia", que son una colección diversa de condiciones hematológicas unidas por la producción ineficaz (o displasia) de células mieloides en la sangre, y similares.

En una modalidad, el cáncer se elige entre un cáncer de pulmón (ej., un cáncer
10 de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) (ej., un NSCLC con histología escamosa y/o no escamosa, o un adenocarcinoma de NSCLC)), un melanoma (ej., un melanoma avanzado), un carcinoma cutáneo de células escamosas (CCE cutáneo) (ej., CCE cutáneo metastásico), un cáncer renal (ej., un carcinoma de células renales, ej., carcinoma de células renales de células claras), un cáncer de hígado, un mieloma (ej.,
15 un mieloma múltiple), un cáncer de próstata, un cáncer de mama (ej., un cáncer de mama que no expresa uno, dos o todos los receptores de estrógeno, receptor de progesterona o Her2/neu, ej., un cáncer de mama triple negativo), un cáncer colorrectal, un cáncer de páncreas, un cáncer de cabeza y cuello (ej., carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC), cáncer anal, cáncer gastroesofágico, cáncer
20 de tiroides, cáncer de cuello uterino, una enfermedad linfoproliferativa (ej. enfermedad linfoproliferativa post trasplante) o un cáncer hematológico, linfoma de células T, linfoma no Hodgkin o una leucemia (ej., una leucemia mieloide).

En otra modalidad, el cáncer se elige a partir de un carcinoma (ej., carcinoma avanzado o metastásico), melanoma o un carcinoma de pulmón, ej., un carcinoma de
25 pulmón de células no pequeñas.

En una modalidad, el cáncer es un cáncer de pulmón, ej., un cáncer de pulmón de células no pequeñas.

En otra modalidad, el cáncer es un cáncer de próstata, ej., un cáncer de próstata avanzado.

30 En aún otra modalidad, el cáncer es un mieloma, ej., mieloma múltiple.

En aún otra modalidad, el cáncer es un cáncer renal, por ejemplo, un carcinoma de células renales (RCC) (por ejemplo, un RCC metastásico o carcinoma de células renales de células claras).

En algunas modalidades, cuando el cáncer es un cáncer de piel (ej., un melanoma, ej., un melanoma avanzado, ej., carcinoma cutáneo de células escamosas, ej., carcinoma cutáneo de células escamosas metastásico).

5 En una modalidad, el cáncer es un melanoma, ej., un melanoma avanzado. En una modalidad, el cáncer es un melanoma avanzado o irresecable que no responde a otras terapias.

10 En algunas modalidades, el cáncer es un cáncer renal, ej., un carcinoma de células renales (CCR). En algunos casos, el cáncer renal es un CCR metastásico, un carcinoma de células renales de células claras (CCRcc) o un carcinoma de células renales de células no claras (CCRnc). En algunos casos, cuando el cáncer es un CCR, ej., CCRcc, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta\text{8}$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, de la invención puede administrarse como terapia de primera o segunda línea.

15 En algunas modalidades, cuando el cáncer es un cáncer de ovario, se puede administrar un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta\text{8}$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, de la invención como una terapia de segunda línea para pacientes resistentes al platino.

En algunas modalidades, el cáncer es un cáncer recurrente y/o resistente al platino.

20 Los métodos y composiciones descritas en la presente son útiles para el tratamiento de lesiones metastásicas asociadas con los cánceres anteriormente mencionados.

Terapias de Combinación

25 Los tumores evaden la vigilancia inmunitaria del hospedero mediante una gran variedad de mecanismos. Muchos de estos mecanismos pueden ser superados por la inactivación de proteínas que se expresan por los tumores y que son inmunosupresoras. Estas incluyen, entre otras, TGF-beta (Kehrl, J. (1986) *J. Exp. Med.* 163: 1037-1050), IL-10 (Howard, M. & O'Garra, A. (1992) *Immunology Today* 13: 198-200), y Fas ligand (Hahne, (1996) *Science* 274: 1363-1365). Los anticuerpos o sus fragmentos de unión a antígeno de los mismos para cada una de estas entidades pueden usarse en combinación con anticuerpos de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta\text{8}$, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, para contrarrestar los efectos del agente

inmunosupresor y favorecer las respuestas inmunitarias tumorales por parte del huésped.

Los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno descritos en este documento pueden usarse en formas no conjugadas o conjugadas con un segundo agente, ej., un fármaco citotóxico, radioisótopo o una proteína, ej., una toxina proteica o una proteína viral. Este método incluye: la administración de la molécula de anticuerpo, sola o conjugada con un fármaco citotóxico, a un sujeto que requiere tal tratamiento. Las moléculas de anticuerpo pueden usarse para suministrar una variedad de agentes terapéuticos, ej., una fracción citotóxica, ej., un fármaco terapéutico, un radioisótopo, moléculas de origen vegetal, micótico o bacteriano, o proteínas biológicas (ej., toxinas proteicas) o partículas (ej., partículas virales recombinantes, ej., a través de una proteína de cubierta viral), o mezclas de los mismos.

En determinadas modalidades, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha v \beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, puede usarse en combinación con otras terapias para proporcionar un efecto terapéutico sinérgico inesperado que puede proporcionar un efecto mayor que un efecto meramente aditivo de agregar dos terapias individuales. Por ejemplo, la terapia de combinación puede incluir una composición de la presente invención co-formulada con, y/o co-administrada con, uno o más agentes terapéuticos adicionales, ej., uno o más agentes anti-cáncer, agentes citotóxicos o citostáticos, tratamiento hormonal, vacunas, y/o otras inmunoterapias. En otras modalidades, las moléculas de anticuerpo se administran en combinación con otras modalidades de tratamiento terapéuticas, incluyendo cirugía, radiación, criocirugía, y/o termoterapia. Tales terapias de combinación sinérgica pueden utilizar ventajosamente dosis más bajas de los agentes terapéuticos administrados, evitando así posibles toxicidades o complicaciones asociadas con las diversas monoterapias.

En ciertas modalidades, los métodos y composiciones descritos en la presente se administran en combinación con una o más de otras moléculas de anticuerpo, quimioterapia, otra terapia anti-cáncer (ej., terapias dirigidas anti-cancer, o medicamentos oncolíticos), agentes citotóxicos, terapias con base inmune (ej., citoquinas), procedimientos quirúrgicos y/o de radiación. Agentes citotóxicos de ejemplo que pueden administrarse en combinación incluyen agentes antimicrotúbulos, inhibidores de la topoisomerasa, antimetabolitos, inhibidores de la mitosis, agentes alquilantes, antraciclinas, alcaloides vinca, agentes intercalantes, agentes capaces de interferir con una ruta de transducción de señales, agentes que

promueven la apoptosis, inhibidores de la proteosoma, y radiación (*ej.*, irradiación local o de todo el cuerpo).

Alternativamente, o en combinación con las combinaciones mencionadas anteriormente, los métodos y composiciones descritos en la presente pueden administrarse en combinación con uno o más de: un inmunomodulador (*ej.*, un activador de una molécula coestimuladora o un inhibidor de una molécula inhibidora); una vacuna, *ej.*, una vacuna terapéutica contra cáncer; u otras formas de inmunoterapia celular.

Combinaciones sinérgicas no limitantes de ejemplo y usos de anticuerpos de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, incluyen lo siguiente.

En determinadas modalidades, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra en combinación con un modulador de una molécula coestimuladora o una molécula inhibidora, *ej.*, un ligando o receptor co-inhibidor.

En una modalidad, se administra un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo, en combinación con un modulador, *ej.*, agonista, de una molécula coestimuladora. En una modalidad, el agonista de la molécula coestimuladora se elige entre un agonista (*ej.*, un anticuerpo agonista o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o fusión soluble) de 4-1BB (CD137), OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM- 1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278), GITR, CD30, CD40, BAFRR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160 o B7-H3.

En otra modalidad, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se usa en combinación con un inmunomodulador, *ej.*, una molécula coestimuladora, *ej.*, un agonista o modulador asociado con una señal positiva que incluye un dominio coestimulador de 4 -1BB (CD137), CD28, CD27, ICOS y GITR.

Moduladores GITR de ejemplo incluyen, *ej.*, proteínas de fusión GITR y anticuerpos anti-GITR (*ej.*, anticuerpos anti-GITR bivalentes), tales como, una proteína de fusión de GITR descrita en la patente EE.UU. 6,111,090, Patente Europea No.: 090505B1, Patent EE.UU. No.: 8,586,023, Publicación PCT Nos.: El documento WO 2010/003118 y 2011/090754, o un anticuerpo anti-GITR se describe, *ej.*, en la Patente EE.UU. No.: 7,025,962, Patente Europea No.: 1947183B1, Patente EE.UU. No.: 7,812,135, Patent EE.UU. No.: 8,388,967, Patent EE.UU. No.: 8,591,886, Patente Europea No.: EP 1866339, Publicación PCT No.: WO 2011/028683, PCT Publication

No.: WO 2013/039954, Publicación PCT No.: WO2005/007190, Publicación PCT No.: WO 2007/133822, PCT Publication No.: WO2005/055808, Publicación PCT No.: WO 99/40196, PCT Publication No.: WO 2001/03720, Publicación PCT No.: WO99/20758, Publicación PCT No.: WO2006/083289, Publicación PCT No.: WO 2005/115451, 5 Patente EE.UU. No.: 7,618,632, y Publicación PCT No.: WO 2011/051726.

En una modalidad, se administra un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en combinación con un inhibidor de una molécula inhibidora de una molécula de punto de control inmunológico. Se entenderá por los expertos en la técnica, que el término "puntos de control inmune" significa un 10 grupo de moléculas en la superficie de células T CD4 y CD8. Estas moléculas pueden servir efectivamente como "frenos" para disminuir o inhibir una respuesta inmune antitumoral. Moléculas de punto de control inmune incluyen, pero no se limitan a, muerte programada 1 (PD-1), antígeno de linfocitos T citotóxicos 4 (CTLA-4), B7H1, B7H4, OX-40, CD137, CD40, LAG-3 y TIM-3, que inhiben directamente las células 15 inmunes. Los agentes inmunoterapéuticos que pueden actuar como inhibidores de puntos de control inmunitarios útiles en los métodos de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM-3, LAG-3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4, CEACAM y/o TGF beta. La inhibición de una molécula inhibitoria puede realizarse mediante la inhibición a nivel de ADN, ARN o 20 proteína. En modalidades, un ácido nucleico inhibitorio (por ejemplo, un dsRNA, siRNA o shRNA), se puede utilizar para inhibir la expresión de una molécula inhibidora. En otras modalidades, el inhibidor de una señal inhibitoria es, un polipéptido *ej.*, un ligando soluble, o un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a la molécula inhibitoria.

En una modalidad, el inhibidor es un ligando soluble (por ejemplo, un CTLA-4-Ig 25 o una TIM-3-Ig), o un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une a PD-1, PD-L1, PD-L2 o CTLA4. Por ejemplo, una molécula de anticuerpo anti-PD-1 puede administrarse en combinación con un anticuerpo anti-CTLA-4, *ej.*, ipilimumab, por ejemplo, para tratar un cáncer (*ej.*, un cáncer seleccionado a partir de: un melanoma, 30 *ej.*, un melanoma metastásico; un cáncer de pulmón, *ej.*, un carcinoma de pulmón de células no pequeñas; o un cáncer de próstata). Anticuerpos anti-CTLA4 de ejemplo incluyen Tremelimumab (IgG2 anticuerpo monoclonal disponible en Pfizer, anteriormente conocido como ticilimumab, CP-675,206), y ipilimumab (anticuerpo CTLA-4, también conocido como MDX-010, CAS No. 477202-00-9); En una modalidad,

se administra un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo, después del tratamiento, *ej.*, después del tratamiento de un melanoma, con un anticuerpo anti-CTLA4 (*ej.*, ipilimumab) con o sin un inhibidor de BRAF (*ej.*, vemurafenib o dabrafenib). Dosis de ejemplo de un anticuerpo anti-CTLA-4, *ej.*,
5 ipilimumab, de aproximadamente 3 mg/kg.

Se pueden usar otros anticuerpos que pueden usarse para activar la respuesta inmune del huésped en combinación con un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo. Estos incluyen moléculas sobre la superficie de células dendríticas que activan la función de las DC y la presentación de antígenos.

10 Los anticuerpos anti-CD40 son capaces de sustituir eficazmente la actividad auxiliar de las células T (Ridge, J. (1998) Nature 393: 474-478) y se puede usar junto con un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo. Los anticuerpos contra moléculas coestimuladoras de células T tales como CTLA-4 (*ej.*, Patente de EE.UU. No. 5,811,097), OX-40 (Weinberg, A. (2000) Immunol 164: 2160-
15 2169), 4-1BB (Melero, I. (1997) Nature Medicine 3: 682-685 (1997), y ICOS (Hutloff, A. (1999) Nature 397: 262-266) también pueden proporcionar mayores niveles de activación de células T.

En determinadas modalidades, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, descrito en el presente documento, se
20 administra en combinación con uno o más inhibidores de PD-1, PD-L1 y/o PD-L2 conocidos en la técnica. En una modalidad, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra simultáneamente con un inhibidor del punto de control inmune (*ej.*, un anticuerpo anti-PD-1, anti-PD-L1 y/o anti-PD-L2, o fragmento de unión a antígeno del mismo) a un sujeto que no ha sido tratado
25 previamente con un inhibidor del punto de control inmune. En una modalidad, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra simultáneamente con un inhibidor del punto de control inmune (por *ej.*, un anticuerpo anti-PD-1, anti-PD-L1 y/o anti-PD-L2, o fragmento de unión a antígeno del mismo) a un sujeto que ha sido tratado previamente con un inhibidor del punto de
30 control inmunológico y en donde el cáncer o tumor había progresado (*ej.*, localmente avanzado, metastatizado). En una modalidad, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra quincenalmente (*ej.*, cada 2 semanas) en un ciclo de 28 días y se administra un inhibidor del punto de control inmunológico cada 4 semanas el día 1 de cada ciclo de 28 días. En una modalidad, un

anticuerpo de integrina anti- $\alpha v \beta 8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra quincenalmente en un ciclo de 28 días y un inhibidor del punto de control inmune (ej., un anticuerpo anti-PD-1, anti-PD-L1 y/o anti-PD-L2, o fragmento de unión a antígeno del mismo) se administra cada 4 semanas el día 1 de cada ciclo de 28 días a un sujeto que tiene un cáncer o un tumor. En una modalidad, un inhibidor de punto de control inmune es un anticuerpo anti-PD1, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, descrito en la publicación PCT No. WO2016/092419, (ej., RN888, conocido como PF-06801591 o sasanlimab). En una modalidad, un cáncer o tumor es carcinoma de células escamosas, ej., carcinoma de células escamosas de cabeza o cuello (SCCHN), carcinoma de células renales (CCR), cáncer de mama o cáncer de colon.

Un inhibidor de PD-1, PD-L1 y/o PD-L2 puede ser un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno del mismo, una inmunoadhesina, una proteína de fusión u oligopéptido. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-PD-1 se elige a partir de MDX-1106, Merck 3475 o CT-011. En una modalidad, un anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab/Opdivo®, pembrolizumab/Keytruda®, spartalizumab, pidilizumab, tislelizumab, AMP-224, AMP-514, cemiplimab o sasanlimab (RN888, mAb7, PF-06801591). En una modalidad, un anticuerpo anti-PD-L1 es MEDI4736, MPDL3280A (YW243.55.s70), BMS-936559 (MDX-1105), atezolizumab/Tecentriq®, durvalumab/Imfizi® o avelumab/Bavencio®. En una modalidad, el anticuerpo anti-PD-L1 no es avelumab. En una modalidad, se describe un anticuerpo anti-PD-1 en la publicación PCT No. WO2016/092419, que incluye, pero no se limita a, mAb7 (también conocido como RN888, PF-06801591 o sasanlimab).

En algunas modalidades, el inhibidor de PD-1 es una inmunoadhesina (ej., una inmunoadhesina que comprende una parte de unión extracelular o PD-L1 o PD-L2 fusionado a una región constante (ej., una región Fc de una secuencia de inmunoglobulina). En algunas modalidades, el inhibidor PD-1 es AMP-224. En algunas modalidades, el inhibidor de PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-L1. En algunas modalidades, un antagonista de unión anti-PD-L1 se elige a partir de YW243.55.s70 (también conocido como MPDL3280A, atezolizumab), MEDI-4736, MSB-0010718C o MDX-1105. MDX-1105, también conocido como BMS-936559, es un anticuerpo anti-PD-L1 descrito en WO2007/005874. El anticuerpo YW243.55.s70 también denominado MPDL3280A (secuencias de región variable de cadena pesada y ligera mostradas en las SEC ID No. 20 y 21, respectivamente) es un anti-PD-L1 descrito en WO 2010/077634.

MDX-1106, también conocido como MDX-1106-04, ONO-4538 o BMS-936558, es un anticuerpo anti-PD-1 descrito en WO2006/121168. Merck 3745, también conocido como MK-3475 o SCH-900475, es un anticuerpo anti-PD-1 descrito en WO2009/114335. Pidilizumab (CT-011; Cure Tech) es un anticuerpo monoclonal IgG1k humanizado que se une a PD-1. Pidilizumab y otros anticuerpos monoclonales anti-PD-1 humanizados se describen en WO2009/101611. En otras modalidades, un anticuerpo anti-PD-1 es pembrolizumab. Pembrolizumab (nombre comercial KEYTRUDA anteriormente lambrolizumab, también conocido como MK-3475) descrito, *ej.*, en Hamid, O. (2013) *New England Journal of Medicine* 369 (2): 134–44. AMP-224 (B7-DCIG; Amplimmune; *ej.*, divulgado en WO2010/027827 y WO2011/066342), es un receptor soluble de fusión Fc PD-L2 que bloquea la interacción entre PD1 y B7-H1. Otros anticuerpos anti-PD1 incluyen AMP -514 (Amplimmune), entre otros, *ej.*, los anticuerpos anti-PD1 descritos en EE.UU. 8.609.089, EE.UU. 2010028330, y/o EE.UU. 20120114649.

En algunas modalidades, un anticuerpo anti-PD-1 es MDX-1106. Los nombres alternativos para MDX-1106 incluyen MDX-1106-04, ONO-4538, BMS-936558 o nivolumab. En algunas modalidades, un anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab (número de registro CAS: 946414-94-4). Nivolumab (también conocido como BMS-936558 o MDX1106; Bristol-Myers Squibb) es un anticuerpo monoclonal IgG4 totalmente humano que bloquea específicamente PD-1. Nivolumab (clón 5C4) y otros anticuerpos monoclonales humanos que se unen específicamente a PD-1 se divulgann en EE.UU. 8008449 y WO2006/121168. Lambrolizumab (también conocido como pembrolizumab o MK03475; Merck) es un anticuerpo monoclonal IgG4 humanizado que se une a PD1. Pembrolizumab y otros anticuerpos anti-PD-1 humanizados se describen en EE.UU. 8354509 y WO2009/114335. MDPL3280A (Genentech/Roche) es un anticuerpo monoclonal IgG1 optimizado de Fc humana que se une a PD-L1. MDPL3280A (también conocido como YW243.55.s70, y otros anticuerpos monoclonales humanos contra PD-L1 se describen en la patente de EE.UU. número 7,943,743 y la publicación de EE.UU. número 20120039906. Las secuencias de YW243.55.s70 (regiones variables de las cadenas pesada y ligera se muestran en las SEC ID NO 20 y 21) también se establecen en los documentos WO2010/077634 y EE.UU. 8.217.149). MDX-1105 (también conocido como BMS-936559) y otros agentes de unión a anti-PD-L1 se describen en el documento WO2007/005874.

En otras modalidades, se administra un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en combinación con una citocina, ej., interleucina-21, interleucina-2, interleucina-12 o interleucina-15. En determinadas modalidades, la combinación de anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo, y la citoquina descrita en este documento se usa para tratar un cáncer, ej., un cáncer como se describe en este documento (ej., un tumor sólido o melanoma).

En todos los métodos descritos en el presente documento, los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o fragmentos de unión a antígeno del mismo, se pueden combinar con otras formas de inmunoterapia como el tratamiento con citocinas (ej., interferones, GM-CSF, G-CSF, IL-2, IL-21) o terapia con anticuerpos biespecíficos, que proporciona una presentación mejorada de antígenos tumorales (véase, ej., Holliger (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 90:6444-6448; Poljak (1994) Structure 2:1121-1123).

Los inmunomoduladores de ejemplo que pueden usarse en combinación con un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, incluyen, pero no se limitan a, ej., afutuzumab (disponible en Roche®); pegfilgrastim (Neulasta®); lenalidomida (CC-5013, Revlimid®); talidomida (Thalomid®), actimid (CC4047); y citocinas, ej., IL-21 o IRX-2 (mezcla de citocinas humanas que incluyen interleucina 1, interleucina 2 e interferón γ , CAS 951209-71-5, disponible de IRX Therapeutics).

En algunas modalidades, el cáncer es cáncer de ovario y se administra un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en combinación con un inhibidor de PARP1 (ej., olaparib, rucaparib, niraparib, veliparib, iniparib, talazoparib, 3- aminobenzamida, CEP 9722, E7016, BSI-201, KU-0059436, AG014699, MK-4827 o BGB-290).

En algunas modalidades, el cáncer es un cáncer de cabeza y cuello, ej., un carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello. En algunas modalidades, se administra un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en combinación con una radioterapia.

Usos Diagnósticos

Los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, de la presente invención también pueden usarse para detectar y/o medir la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$, o células que expresan integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ en una muestra, ej., con fines de

diagnóstico. Por ejemplo, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta8$, o un fragmento del mismo, puede usarse para diagnosticar una afección o enfermedad caracterizada por una expresión aberrante (por ejemplo, sobreexpresión, infraexpresión, falta de expresión, etc.) de la integrina anti- $\alpha\beta8$. Los ensayos de diagnóstico de ejemplo para la integrina $\alpha\beta8$ pueden comprender, ej., poner en contacto una muestra, obtenida de un paciente, con un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, de la invención, en el que un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se marca con un marcador detectable o molécula informadora.

En un aspecto, la presente invención proporciona un método de diagnóstico para detectar la presencia de una proteína de integrina $\alpha\beta8$ in vitro (ej., En una muestra biológica, como una biopsia de tejido, ej., De un tejido canceroso) o in vivo (ej., En imagen en vivo en un sujeto). El método incluye: (i) poner en contacto la muestra con un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, descrito en el presente documento, o administrar al sujeto, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo; (opcionalmente) (ii) poner en contacto una muestra de referencia, por ejemplo, una muestra de control (por ejemplo, una muestra biológica de control, como plasma, tejido, biopsia) o un sujeto de control)); y (iii) detectar la formación de un complejo entre el anticuerpo, o su fragmento de unión al antígeno, y la muestra o sujeto, o la muestra de control o sujeto, en el que un cambio, por ejemplo, un cambio estadísticamente significativo, en la formación del complejo en la muestra o sujeto en relación con la muestra de control o sujeto es indicativo de la presencia de integrina $\alpha\beta8$ en la muestra. La molécula de anticuerpo puede marcarse directa o indirectamente con una sustancia detectable para facilitar la detección del anticuerpo unido o no unido. Las sustancias detectables adecuadas incluyen diversas enzimas, grupos prostéticos, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes y materiales radiactivos, como se describió anteriormente y se describe con más detalle a continuación.

El término "muestra", que se refiere a muestras utilizadas para la detección de polipéptidos incluye, pero no se limita a, células, lisados de células, proteínas o extractos de membranas de células, fluidos corporales, o muestras de tejido.

La formación de complejos entre la molécula de anticuerpo y la integrina $\alpha\beta8$ puede detectarse midiendo o visualizando la molécula de unión unida al antígeno de la integrina $\alpha\beta8$ o la molécula de unión no unida. Ensayos de detección convencionales se pueden utilizar, por ejemplo, ensayos de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA),

un radioinmunoensayo (RIA) o inmunohistoquímica de tejidos. Como alternativa al etiquetado del anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo, la presencia de integrina $\alpha\beta 8$ puede ensayarse en una muestra mediante un inmunoensayo competitivo utilizando patrones marcados con una sustancia detectable y una molécula de anticuerpo no marcada. En este ensayo, se combinan la muestra biológica, los patrones marcados y el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, y se determina la cantidad de patrón marcado unido a la molécula de unión no marcada. La cantidad de integrina $\alpha\beta 8$ en la muestra es inversamente proporcional a la cantidad de patrón marcado unido al anticuerpo, o fragmento de unión al antígeno del mismo.

COMPOSICIONES

La divulgación también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad eficaz de anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$ descritos en el presente documento. En el presente documento también se describen ejemplos de tales composiciones, así como también cómo formularlas. En algunas modalidades, la composición comprende uno o más anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$. En algunas modalidades, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta 8$ reconoce la integrina $\alpha\beta 8$ (por ejemplo, la integrina $\alpha\beta 8$ de un ser humano, ratón, mono cynomolgus o rata). En algunas modalidades, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta 8$ es un anticuerpo humanizado. En algunas modalidades, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta 8$ es un anticuerpo quimérico. En algunas modalidades, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta 8$ comprende una región constante que es capaz de desencadenar una respuesta inmune deseada, tal como lisis mediada por anticuerpos o ADCC.

La composición utilizada en la presente divulgación puede comprender además vehículos, excipientes o estabilizadores farmacéuticamente aceptables, en forma de formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas.

Como se usa en este documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" o "excipiente farmacéuticamente aceptable" incluye cualquier material que, cuando se combina con un ingrediente activo, permite que el ingrediente retenga actividad biológica y no sea reactivo con el sistema inmune del sujeto. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de los vehículos farmacéuticos estándar tales como una solución salina tamponada con fosfato, agua, emulsiones tales como emulsión de aceite/agua y diversos tipos de agentes humectantes. Los diluyentes preferidos para administración en aerosol o parenteral son solución salina tamponada con fosfato

(PBS) o solución salina normal (0,9%). Las composiciones que comprenden tales vehículos se formulan mediante métodos convencionales bien conocidos (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18^a edición, A. Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990; y Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed., Mack Publishing, 2000).

Los vehículos, excipientes o estabilizadores aceptables no son tóxicos para los receptores a las dosis y concentraciones, y pueden comprender buffers tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes que incluyen ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencil amonio, cloruro de hexametonio, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, fenol, alcohol butílico o bencílico, alquil parabenos tales como metil o propil parabeno, catecol, resorcinol, ciclohexanol, 3-pentanol y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 residuos); proteínas, tales como albúmina sérica, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros hidratos de carbono que incluyen glucosa, manosa o dextranos; agentes quelantes tales como EDTA; azúcares tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sal tales como sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos de Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos tales como TWEEN[™], PLURONICS[™] o polietilenglicol (PEG). Excipientes farmacéuticamente aceptables se describen adicionalmente aquí.

Los anticuerpos de integrina anti- $\alpha v \beta 8$ y las composiciones de los mismos también se pueden usar junto con otros agentes, incluido un agente terapéutico adicional (por ejemplo, un inhibidor de una molécula de control inmunológico) que sirve para mejorar y / o complementar la eficacia de los agentes.

La divulgación también proporciona composiciones, que incluyen composiciones farmacéuticas, que comprenden polinucleótidos que codifican anticuerpos de la divulgación. En algunas modalidades, la composición comprende un vector de expresión que comprende un polinucleótido que codifica el anticuerpo como se describe en el presente documento. En algunas modalidades, una composición comprende uno o ambos polinucleótidos de las SEC ID NO: 1 o 4. En algunas modalidades, una composición comprende uno o ambos polinucleótidos de las SEC ID NO: 183 o 4. En algunas modalidades, una composición comprende uno o ambos polinucleótidos de las

SEC ID NO: 185 o 189. En algunas modalidades, una composición comprende uno o ambos polinucleótidos de las SEC ID NO: 185 o 191.

En otro aspecto, el polinucleótido puede codificar VH, VL y / o tanto VH como VL de un anticuerpo de la divulgación. Es decir, la composición comprende un único
5 polinucleótido o más de un polinucleótido que codifica el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la divulgación.

Los compuestos farmacéuticos de la descripción pueden incluir una o más sales farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de tales sales incluyen sales de adición de ácido y sales de adición de base. Sales de adición de ácido incluyen las derivadas de
10 ácidos inorgánicos no tóxicos, tales como clorhídrico, nítrico, fosfórico, sulfúrico, bromhídrico, yodhídrico, fosforoso y similares, así como de ácidos orgánicos no tóxicos tales como ácidos alifáticos y mono-y di-carboxílicos, ácidos alcanoicos fenil- sustituidos, ácidos hidroxialcanoicos, ácidos aromáticos, ácidos sulfónicos alifáticos y aromáticos y similares. Sales de adición de base incluyen las derivadas de metales alcalinotérreos,
15 tales como sodio, potasio, magnesio, calcio y similares, así como de aminas orgánicas no tóxicas, tales como N, N'-dibenciletilendiamina, N-metilglucamina, cloroprocaina, colina, dietanolamina, etilendiamina, procaina y similares.

Una composición farmacéutica de la descripción también puede incluir un antioxidante farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de antioxidantes
20 farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, hidrocloruro de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio y similares; (2) antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol, y similares, y (3) agentes quelantes de metales, tales como ácido
25 cítrico, ácido etilendiamina tetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico, y similares.

Ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas de la descripción incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares), y mezclas adecuadas de
30 los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y mediante el uso de surfactantes.

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. Prevención de la presencia de microorganismos se puede asegurar tanto mediante procedimientos de esterilización y por la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, ácido sórbico de fenol, y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio, y similares en las composiciones. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede ser provocada por la inclusión de agentes que retrasan la absorción tales como, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las composiciones farmacéuticas típicamente deben ser estériles y estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición puede formularse como una solución, microemulsión, liposoma, u otra estructura ordenada adecuada para una alta concentración de fármaco. El vehículo relevante puede ser un solvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, glicol de propileno, y glicol de polietileno líquido, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de una cubierta tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y mediante el uso de surfactantes. En muchos casos, será adecuado incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol, o cloruro de sodio en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede lograrse incluyendo en la composición un agente que retarda la absorción, por ejemplo, sales monoestearato y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse mediante la incorporación del compuesto activo en la cantidad requerida en un solvente adecuado con uno o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según se requiere, seguido por esterilización por microfiltración.

Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación preferidos son secado al vacío y secado por congelación (liofilización) lo cual produce un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional a partir de una solución estéril previamente filtrada del mismo.

Una composición farmacéutica de la presente divulgación puede prepararse, envasarse o venderse en una formulación adecuada para administración oftálmica. Tales formulaciones, por ejemplo, pueden estar en la forma de gotas para los ojos, que incluyen, por ejemplo, una solución o suspensión del ingrediente activo al 0,1-1,0% (peso/peso) en un vehículo líquido acuoso u oleoso. Tales gotas pueden comprender además agentes amortiguantes, sales, o uno o más de los ingredientes adicionales descritos en este documento. Otras formulaciones administrables oftálmicamente que son útiles incluyen aquellas que comprenden el ingrediente activo en forma microcristalina o en una preparación liposomal.

Como se usa en este documento, "ingredientes adicionales" incluyen, pero no se limitan a, uno o más de los siguientes: excipientes; agentes tensioactivos; agentes dispersantes; diluyentes inertes; agentes granuladores y desintegrantes; agentes aglutinantes; agentes lubricantes; agentes edulcorantes; agentes aromatizantes; agentes colorantes; conservantes; composiciones fisiológicamente degradables, tales como gelatina; vehículos y disolventes acuosos; vehículos y disolventes oleosos; agentes de suspensión; agentes dispersantes o humectantes; agentes emulsionantes, demulcentes; tampones; sales; agentes espesantes; rellenos; agentes emulsionantes; antioxidantes; antibioticos; agentes antifúngicos; agentes estabilizantes; y materiales poliméricos o hidrófobos farmacéuticamente aceptables. Otros "ingredientes adicionales" que pueden incluirse en las composiciones farmacéuticas de la divulgación son conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, Genaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA (1985), que es incorporado aquí como referencia.

En una modalidad, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha v \beta 8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se formula en un vial que contiene 100 mg de anticuerpo de integrina anti- $\alpha v \beta 8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo, en 1 ml de solución acuosa tamponada.

En una modalidad, se administra un anticuerpo de integrina anti- $\alpha v \beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en una formulación intravenosa como una solución acuosa estéril que contiene aproximadamente 0.1 mg/ml, aproximadamente 1 mg/ml, aproximadamente 2 mg/ml, aproximadamente 3 mg/ml, aproximadamente 4 mg/ml, 5 mg/ml, o en algunas modalidades, aproximadamente 10 mg/ml, o en algunas modalidades, aproximadamente 15 mg/ml, o en algunas modalidades, aproximadamente 20 mg/ml de anticuerpo, o en algunas modalidades,

aproximadamente 25 mg/ml, o en algunas modalidades, aproximadamente 50 mg/ml o en algunas modalidades, aproximadamente 100 mg/ml y dextrosa al 5%. En algunas modalidades, una formulación intravenosa es una solución acuosa estéril que contiene de 0.1 mg/ml a 15 mg/ml de anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo en dextrosa al 5%. En algunas modalidades, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, se formula en una composición que contiene acetato de sodio, polisorbato 80 y cloruro de sodio a un pH que varía de aproximadamente 5 a 6. En algunas modalidades, la formulación intravenosa es una solución acuosa estéril que contiene 5 o 10 mg/ml de anticuerpo, con acetato de sodio 20 mM, polisorbato 80 de 0,2 mg/ml y cloruro de sodio 140 mM a pH 5,5. Además, una solución que comprende un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, puede comprender, entre muchos otros compuestos, histidina, manitol, sacarosa, trehalosa, glicina, poli (etilen) glicol, EDTA, metionina y cualquier combinación de los mismos, y muchos otros compuestos conocidos en la técnica relevante.

En una modalidad, una composición farmacéutica de la presente descripción comprende los siguientes componentes: 50 mg/ml de anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$ o fragmento de unión a antígeno de la presente descripción, histidina 20 mM, 8.5% de sacarosa y 0.02% de polisorbato 80, 0.005% de EDTA a pH 5.8; en otra modalidad, una composición farmacéutica de la presente invención comprende los siguientes componentes: 100 mg/ml de anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$ o fragmento de unión a antígeno de la presente descripción, histidina 10 mM, sacarosa al 5% y polisorbato 80 al 0.01% a pH 5.8. Esta composición puede proporcionarse como una formulación líquida o como un polvo liofilizado. Cuando el polvo se reconstituye a todo volumen, la composición retiene la misma formulación. Alternativamente, el polvo puede reconstituirse a medio volumen, en cuyo caso la composición comprende 100 mg de anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$ o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente descripción, histidina 20 mM, sacarosa al 10% y polisorbato 80 al 0.02% a pH 5.8.

En una modalidad, parte de la dosis se administra mediante un bolo intravenoso y el resto mediante infusión de la formulación de anticuerpos. Por ejemplo, una inyección intravenosa de 0.01 mg/kg del anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, puede administrarse como un bolo, y el resto de la dosis de anticuerpo puede administrarse mediante inyección intravenosa. Se

puede administrar una dosis predeterminada de un anticuerpo de integrina anti- $\alpha v\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, por ejemplo, durante un período de una hora y media a dos horas a cinco horas.

5 Con respecto a un agente terapéutico, donde el agente es, por ejemplo, una molécula pequeña, puede estar presente en una composición farmacéutica en forma de un éster o sal fisiológicamente aceptable, tal como en combinación con un catión o anión fisiológicamente aceptable, como es bien conocido en la técnica.

10 Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden prepararse mediante cualquier método conocido o desarrollado a continuación en la técnica de farmacología. En general, tales métodos de preparación incluyen la etapa de asociar el ingrediente activo con un vehículo o uno o más ingredientes accesorios adicionales, y luego, si es necesario o deseable, dar forma o empaquetar el producto en una unidad de dosis única o múltiple deseada.

15 En una modalidad, las composiciones de la divulgación son formulaciones libres de pirógenos que están sustancialmente libres de endotoxinas y/o sustancias pirogénicas relacionadas. Las endotoxinas incluyen toxinas que están confinadas dentro de un microorganismo y se liberan cuando los microorganismos se descomponen o mueren. Las sustancias pirogénicas también incluyen sustancias termoestables (glucoproteínas) que inducen fiebre, procedentes de la membrana
20 externa de bacterias y otros microorganismos. Ambas sustancias pueden causar fiebre, hipotensión y shock si se administran a humanos. Debido a los posibles efectos nocivos, es ventajoso para eliminar incluso cantidades bajas de endotoxinas de soluciones farmacéuticas administradas por vía intravenosa. La Administración de Alimentos y Fármacos ("FDA") ha establecido un límite superior de 5 unidades de
25 endotoxinas (UE) por dosis por kilogramo de peso corporal en un solo período de una hora para aplicaciones de fármacos intravenosos (Convención Farmacopea de los Estados Unidos, Foro Farmacopea 26 (1):223 (2000)). Cuando las proteínas terapéuticas se administran en cantidades de varios cientos o mil miligramos por kilogramo de peso corporal, es ventajoso eliminar incluso trazas de endotoxinas. En
30 una modalidad, los niveles de endotoxinas y pirógenos en la composición son menos de 10 EU/mg, o menos de 5 EU/mg, o menos de 1 EU/mg, o menos de 0.1 EU/mg, o menos de 0.01 EU/mg, o menos de 0.001 EU/mg. En otra modalidad, los niveles de endotoxinas y pirógenos en la composición son menos que aproximadamente 10 EU/mg, o menos que aproximadamente 5 EU/mg, o menos que aproximadamente 1

EU/mg, o menos que aproximadamente 0.1 EU/mg, o menos que aproximadamente 0,01 EU/mg, o menos que aproximadamente 0,001 EU/mg.

En una modalidad, la divulgación comprende administrar una composición en la que dicha administración es oral, parenteral, intramuscular, intranasal, vaginal, rectal, lingual, sublingual, bucal, intrabucal, intravenosa, cutánea, subcutánea o transdérmica.

En otra modalidad, la descripción comprende además administrar una composición en combinación con otras terapias, tales como cirugía, quimioterapia, terapia hormonal, terapia biológica, inmunoterapia o radioterapia.

VI. DOSIFICACIÓN/ADMINISTRACIÓN

Para preparar composiciones farmacéuticas o estériles que incluyen un anticuerpo de integrina anti- $\alpha v \beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la descripción, el anticuerpo se mezcla con un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. Las formulaciones de agentes terapéuticos y de diagnóstico se pueden preparar al mezclar con vehículos, excipientes o estabilizadores fisiológicamente aceptables en forma de, *ej.*, polvos liofilizados, lodos, soluciones acuosas, lociones o suspensiones (véase, *ej.*, Hardman, (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, N.Y.; Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, N. Y.; Avis, (eds.) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY; Lieberman, (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY; Lieberman, (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY; Weiner y Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.).

Seleccionar un régimen de administración para un agente terapéutico depende de varios factores, incluyendo la tasa de renovación sérica o tisular de la entidad, el nivel de síntomas, la inmunogenicidad de la entidad y la accesibilidad de las células diana en la matriz biológica. En ciertas modalidades, un régimen de administración maximiza la cantidad de agente terapéutico administrado al paciente coherente con un nivel aceptable de efectos secundarios. En consecuencia, la cantidad de agente biológico entregado depende en parte de la entidad particular y la gravedad de la condición a tratar. Orientación en la selección de dosis apropiadas de anticuerpos, citoquinas y moléculas pequeñas están disponibles (véase, *ej.*, Wawrzynczak, 1996, Antibody Therapy, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK; Kresina (ed.), 1991,

Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis, Marcel Dekker, New York, N.Y.; Bach (ed.),1993, Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases, Marcel Dekker, New York, N. Y.; Baert, 2003, New Engl. J. Med. 348:601-608; Milgrom, 1999, New Engl. J. Med. 341:1966-1973; Slamon, 2001, New Engl. J. Med. 344:783-792; Beniaminovitz, 2000, New Engl. J. Med. 342:613-619; Ghosh, 2003, New Engl. J. Med. 348:24-32; Lipsky, 2000, New Engl. J. Med. 343:1594 -1602).

La determinación de la dosis apropiada se realiza por el médico, por ejemplo, usando parámetros o factores conocidos o supuestos en la técnica que afectan el tratamiento o se prevé que afectan al tratamiento. Generalmente, la dosis comienza con una cantidad algo menor que la dosis óptima y se aumenta en pequeños incrementos a partir desde allí hasta que el efecto deseado u óptimo se obtiene con respecto a cualquier efecto secundario negativo. Importantes medidas de diagnóstico incluyen las de síntomas de, por ejemplo, la inflamación o el nivel de citoquinas inflamatorias producidas.

Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden variar para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente en particular, composición, y modo de administración, sin ser tóxica para el paciente. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores farmacocinéticos que incluyen la actividad de las composiciones particulares empleadas de la presente divulgación, o el éster, sal o amida de las mismas, la vía de administración, el tiempo de administración, la tasa de excreción del compuesto particular que se emplea, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales utilizados en combinación con las composiciones particulares empleadas, la edad, sexo, peso, condición, salud general e historia médica anterior del paciente a tratar, y factores de este tipo conocidos en las técnicas médicas.

Las composiciones que comprenden anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$ o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, de la descripción pueden proporcionarse por infusión continua, o por dosis a intervalos de, por ejemplo, un día, una semana o 1-7 veces por semana. Las dosis se pueden proporcionar por vía intravenosa, subcutánea, tópica, oral, nasal, rectal, intramuscular, intracerebral o por inhalación. Un protocolo de dosis específico es uno que implica la dosis máxima o frecuencia de la dosis que evita efectos secundarios indeseables significativos. Una dosis semanal total puede ser al menos 0.05 $\mu\text{g/kg}$ de peso corporal, al menos 0.2

μg/kg, al menos 0.5 μg/kg, al menos 1 μg/kg, al menos 10 μg/kg, al menos 100 μg/kg, al menos 0.2 mg/kg, al menos 1.0 mg/kg, al menos 2.0 mg/kg, al menos 10 mg/kg, al menos 15 mg/kg, al menos 20 mg/kg, al menos 25 mg/kg, o al menos 50 mg/kg (véase, por ejemplo, Yang, 2003, *New Engl. J. Med.* 349:427-434; Herold, 2002, *New Engl. J. Med.* 346:1692-1698; Liu, 1999, *J. Neurol. Neurosurg. Psych.* 67:451-456; Portielji, et al., 2003, *Cancer. Immunol. Immunother.* 52: 133-144). La dosis puede ser de al menos 15 μg, al menos 20 μg, al menos 25 μg, al menos 30 μg, al menos 35 μg, al menos 40 μg, al menos 45 μg, al menos 50 μg, al menos 55 μg, al menos 60 μg, al menos 65 μg, al menos 70 μg, al menos 75 μg, al menos 80 μg, al menos 85 μg, al menos 90 μg, al menos 95 μg o al menos 100 μg. Las dosis administradas a un sujeto pueden ser al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12, o más.

Para los anticuerpos de integrina anti-αvβ8 o fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la descripción, la dosis administrada a un paciente puede ser de 0.0001 mg/kg a 100 mg/kg del peso corporal del paciente. La dosificación puede estar entre 0,0001 mg/kg y 20 mg/kg, 0,0001 mg/kg y 10 mg/kg, 0,0001 mg/kg y 5 mg/kg, 0,0001 y 2 mg/kg, 0,0001 y 1 mg/kg, 0,0001 mg/kg y 0,75 mg/kg, 0,0001 mg/kg y 0,5 mg/kg, 0,0001 mg/kg a 0,25 mg/kg, de 0,0001 a 0,15 mg/kg, de 0,0001 a 0,10 mg/kg, de 0,001 a 0,5 mg/kg, 0,01 a 0,25 mg/kg o de 0,01 a 0,10 mg/kg de peso corporal del paciente. En algunas modalidades, una dosis de un anticuerpo de integrina anti-αvβ8 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, administrado a un paciente que lo necesita, es de aproximadamente 0.1 mg/kg, aproximadamente 0.3 mg/kg, aproximadamente 2 mg/kg o aproximadamente 3.0 mg/kg de peso corporal del paciente. En algunas modalidades, una dosis de un anticuerpo de integrina anti-αvβ8 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, administrado a un paciente que lo necesita, es de aproximadamente 0.4 mg/kg, aproximadamente 4 mg/kg, aproximadamente 40 mg/kg o aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal del paciente.

En algunas modalidades, una dosis de un anticuerpo de integrina anti-αvβ8 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, administrada a un paciente que lo necesita cada 14 días, es de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 12 mg/kg del peso corporal del paciente. En algunas modalidades, una dosis de un anticuerpo de integrina anti-αvβ8 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, administrada a un paciente que lo necesita cada 14 días, es de aproximadamente 2 mg/kg del peso corporal del paciente. En algunas modalidades, una dosis de un anticuerpo de integrina anti-αvβ8 o un fragmento de unión a antígeno del mismo, administrada a un paciente

que lo necesita cada 14 días, es de aproximadamente 7 mg/kg del peso corporal del paciente.

En algunas modalidades, una dosis de un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$ o un fragmento de unión a antígeno del mismo, administrada a un paciente que lo necesita cada 28 días, es de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg del peso corporal del paciente. En algunas modalidades, una dosis de un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$ o un fragmento de unión a antígeno del mismo, administrada a un paciente que lo necesita cada 28 días, es de aproximadamente 4 mg/kg del peso corporal del paciente. En algunas modalidades, una dosis de un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$ o un fragmento de unión a antígeno del mismo, administrada a un paciente que lo necesita cada 28 días, es de aproximadamente 12 mg/kg del peso corporal del paciente.

La dosificación de anticuerpos de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$ o un fragmento de unión a antígeno del mismo se puede calcular usando el peso del paciente en kilogramos (kg) multiplicado por la dosis a administrar en mg/kg. La dosificación de los anticuerpos de la divulgación puede ser 150 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 125 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 100 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 95 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 90 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 85 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 80 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 75 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 70 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 65 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 60 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 55 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 50 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 45 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 40 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 35 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 30 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 25 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 20 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 15 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 10 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 5 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 2.5 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 2 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 1.5 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 1 $\mu\text{g/kg}$ o menos, 0.5 $\mu\text{g/kg}$ o menos, o 0.1 $\mu\text{g/kg}$ o menos del peso corporal del paciente.

La dosis unitaria de anticuerpos de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$ o fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la divulgación puede ser de 0.1 mg a 200 mg, 0.1 mg a 175 mg, 0.1 mg a 150 mg, 0.1 mg a 125 mg, 0.1 mg a 100 mg, 0.1 mg a 75 mg, 0.1 mg a 50 mg, 0.1 mg a 30 mg, 0.1 mg a 20 mg, 0.1 mg a 15 mg, 0.1 mg a 12 mg, 0.1 mg a 10 mg, 0.1 mg a 8 mg, 0.1 mg a 7 mg, 0.1 mg a 5 mg, 0.1 a 2.5 mg, 0.25 mg a 20 mg, 0.25 a 15 mg, 0.25 a 12 mg, 0.25 a 10 mg, 0.25 a 8 mg, 0.25 mg a 7 mg, 0.25 mg a 5 mg, 0.5 mg a 2.5 mg, 1 mg a 20 mg, 1 mg a 15 mg, 1 mg a 12 mg, 1 mg a 10 mg, 1 mg a 8 mg, 1 mg a 7 mg, 1 mg a 5 mg, o 1 mg a 2,5 mg. En una modalidad, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la divulgación se administra a una dosis unitaria de aproximadamente 100 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 1200 mg, aproximadamente 1400 mg o aproximadamente 1600 mg.

La dosificación de los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$ o fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la descripción puede alcanzar un título en suero de al menos 0,1 $\mu\text{g/ml}$, al menos 0,5 $\mu\text{g/ml}$, al menos 1 $\mu\text{g/ml}$, al menos 2 $\mu\text{g/ml}$, a al menos 5 $\mu\text{g/ml}$, al menos 6 $\mu\text{g/ml}$, al menos 10 $\mu\text{g/ml}$, al menos 15 $\mu\text{g/ml}$, al menos 20 $\mu\text{g/ml}$, al menos 25 $\mu\text{g/ml}$, al menos 50 $\mu\text{g/ml}$, al menos 100 $\mu\text{g/ml}$, al menos 125 $\mu\text{g/ml}$, al menos 150 $\mu\text{g/ml}$, al menos 175 $\mu\text{g/ml}$, al menos 200 $\mu\text{g/ml}$, al menos 225 $\mu\text{g/ml}$, al menos 250 $\mu\text{g/ml}$, al menos 275 $\mu\text{g/ml}$, al menos 300 $\mu\text{g/ml}$, al menos 325 $\mu\text{g/ml}$, al menos 350 $\mu\text{g/ml}$, al menos 375 $\mu\text{g/ml}$ o al menos 400 $\mu\text{g/ml}$ en un sujeto. Alternativamente, la dosificación de los anticuerpos de la descripción puede alcanzar un título en suero de al menos 0,1 $\mu\text{g/ml}$, al menos 0,5 $\mu\text{g/ml}$, al menos 1 $\mu\text{g/ml}$, al menos, 2 $\mu\text{g/ml}$, al menos 5 $\mu\text{g/ml}$, al menos 6 $\mu\text{g/ml}$, al menos 10 $\mu\text{g/ml}$, al menos 15 $\mu\text{g/ml}$, al menos 20 $\mu\text{g/ml}$, al menos 25 $\mu\text{g/ml}$, al menos 50 $\mu\text{g/ml}$, al menos 100 $\mu\text{g/ml}$, al menos 125 $\mu\text{g/ml}$, al menos 150 $\mu\text{g/ml}$, al menos 175 $\mu\text{g/ml}$, al menos 200 $\mu\text{g/ml}$, al menos 225 $\mu\text{g/ml}$, al menos 250 $\mu\text{g/ml}$, al menos 275 $\mu\text{g/ml}$, al menos 300 $\mu\text{g/ml}$, al menos 325 $\mu\text{g/ml}$, al menos 350 $\mu\text{g/ml}$, al menos 375 $\mu\text{g/ml}$ o al menos 400 $\mu\text{g/ml}$ en el sujeto.

Las dosis de anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la descripción pueden repetirse y las administraciones pueden estar separadas por al menos 1 día, 2 días, 3 días, 5 días, 10 días, 15 días, 30 días, 45 días, 2 meses, 75 días, 3 meses o al menos 6 meses.

Una cantidad eficaz para un paciente particular puede variar dependiendo de factores tales como la condición a tratar, la salud general del paciente, la vía, método y la dosis de administración y la severidad de efectos secundarios (véase, por ejemplo, Maynard, 1996, A Handbook of SOPs for Good Clinical Practice, Interpharm Press, Boca Raton, Fla.; Dent, 2001, Good Laboratory and Good Clinical Practice, Urch Publ., Londres, UK).

La vía de administración puede ser, *ej.*, aplicación tópica o cutánea, inyección o infusión por vía intravenosa, intraperitoneal, intracerebral, intramuscular, intraocular, intraarterial, intracerebrospinal, intralesional o por sistemas de liberación sostenida o un implante (véase, *ej.*, Sidman, 1983, Biopolymers 22: 547-556; Langer, 1981, J. Biomed. Mater. Res. 15: 167-277; Langer, 1982, Chem. Tech. 12:98-105; Epstein, 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688-3692; Hwang, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030-4034; Patente estadounidense Nos. 6,350,466 y 6,316,024). En una modalidad, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la divulgación se administra por vía intravenosa. En una modalidad, un anticuerpo de

integrina anti- $\alpha\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo de la divulgación se administra por vía subcutánea.

Cuando sea necesario, la composición también puede incluir un agente solubilizante y un anestésico local tal como lidocaína para aliviar el dolor en el sitio de la inyección. Además, la administración pulmonar también se puede emplear, por ejemplo, mediante el uso de un inhalador o nebulizador, y formulación con un agente de aerosol. Veáse, por ejemplo la Patente EE.UU. Nos. 6.019.968, 5.985.320, 5.985.309, 5.934.272, 5.874.064, 5.855.913, 5.290.540, y 4.880.078, y la publicación PCT N ° WO 92/19244, WO 97/32572, WO 97/44013, WO 98/31346, y WO 99/66903, cada una de las cuales se incorpora en la presente como referencia en su totalidad. En una modalidad, el anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta 8$, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, o una composición de la divulgación se administra usando la tecnología de administración de fármaco pulmonar Alkermes AIR TM (Alkermes, Inc., Cambridge, Mass.).

Una composición de la presente divulgación también se puede administrar por una o más vías de administración utilizando una o más de una variedad de métodos conocidos en la técnica. Como se apreciará por el experto, la vía y/o modo de administración variará dependiendo de los resultados deseados. Las rutas de administración seleccionadas para anticuerpos de la divulgación incluyen rutas intravenosa, intramuscular, intradérmica, intraperitoneal, subcutánea, espinal u otras rutas parenterales de administración, por ejemplo por inyección o infusión. La administración parenteral puede representar modos de administración distintos de la administración enteral y tópica, normalmente mediante inyección, e incluye, sin limitación, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoide, intraespinal, epidural e intraesternal. Alternativamente, una composición de la divulgación puede administrarse por vía no parenteral, tal como una ruta de administración tópica, epidérmica o mucosal, por ejemplo por vía intranasal, oral, vaginal, rectal, sublingual, o tópica.

Si los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$, o sus fragmentos de unión a antígeno, de la divulgación se administran en un sistema de liberación controlada o de liberación sostenida, se puede usar una bomba para lograr la liberación controlada o sostenida

(véase, Langer, supra; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Ing. 14:20; Buchwald, 1980, Surgery 88: 501; Saudek, 1989, N. Engl. J. Med. 321:514).

Los materiales poliméricos se pueden usar para lograr la entrega controlada o sostenida de las terapias de la divulgación (véase, *ej.*, Medical Applications of

5 Controlled Release, Langer y Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, FL. (1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger y Peppas, 1983, J., Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61; véase también Levy, 1985, Science 11 225:190; During, 1979, Ann. Neurol. 25:351; Howard, 1989, J. Neurosurg. 71: 105); Patente estadounidense

10 No. 5,679,377, la Patente de EE.UU. No. 5,916,597, la Patente de EE.UU. No. 5,912,015, la Patente de EE.UU. No. 5,989,463, la Patente de EE.UU. N° 5.128.326; Publicación PCT No. WO 99/15154; y Publicación PCT No. WO 99/20253. Ejemplos de polímeros usados en formulaciones de liberación sostenida incluyen, pero no se limitan a, poli (metacrilato de 2-hidroxietilo), poli (metacrilato de metilo), poli (ácido acrílico),

15 poli (acetato de etileno-co-vinilo), poli (ácido metacrílico), poliglicólidos (PLG), polianhídridos, poli (N-vinil pirrolidona), poli (alcohol vinílico), poliacrilamida, poli (etilenglicol), polilactidas (PLA), poli (lactida-co-glicólidos) (PLGA), y poliortoésteres. En una modalidad, el polímero utilizado en una formulación de liberación sostenida es inerte, libre de impurezas lixiviables, estable al almacenamiento, estéril y

20 biodegradable. Un sistema de liberación controlada o sostenida se puede colocar en proximidad de la diana profiláctica o terapéutica, requiriendo así sólo una fracción de la dosis sistémica (véase, *ej.*, Goodson, en Medical Applications of Controlled Release, arriba, vol. 2, pp. 115-138, (1984)).

Sistemas de liberación controlada se discuten en la revisión de Langer, 1990,

25 Science 249:1527-1533. Cualquier técnica conocida por un experto en la técnica puede usarse para producir formulaciones de liberación sostenida que comprenden uno o más anticuerpos de la divulgación o sus conjugados. Véase, por ejemplo Patente EE.UU. No. 4,526,938, Publicación de Patente Internacional Nos. WO 91/05548, WO 96/20698, Ning, 1996, "Intratumoral Radioimmunotherapy of a Human Colon Cancer Xenograft

30 Using a Sustained-Release Gel," Radiotherapy and Oncology 59:179-189, Song, 1995, "Antibody Mediated Lung Targeting of Long-Circulating Emulsions," PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology 50:372-397, Cleek, 1997, "Biodegradable Polymeric Carriers for a bFGF Antibody for Cardiovascular Application," Pro. MI. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 24:853-854, y Lam, 1997, "Microencapsulation of

Recombinant Humanized Monoclonal Antibody for Local Delivery," Proc. MI. Symp. Control Rel. Bioact. Mater. 24: 759-160, cada uno de los cuales se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

Si un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o el fragmento de unión a antígeno del mismo, de la divulgación se administra tópicamente, se puede formular en forma de ungüento, crema, parche transdérmico, loción, gel, champú, espray, aerosol, solución, emulsión o otra forma conocida por un experto en la técnica. Véase, ej., Ciencias Farmacéuticas e Introducción a Formas Farmacéuticas de Dosificación de Remington, 19a ed., Mack Pub. Co., Easton, Pa. (1995). Para formas de dosificación tópicas no pulverizables, típicamente se emplean formas viscosas a semisólidas o sólidas que comprenden un vehículo o uno o más excipientes compatibles con la aplicación tópica y que tienen una viscosidad dinámica, en algunos casos, mayor que el agua. Las formulaciones adecuadas incluyen, sin limitación, soluciones, suspensiones, emulsiones, cremas, ungüentos, polvos, linimentos, ungüentos, y similares, que son, si se desea, esterilizados o mezclados con agentes auxiliares (por ejemplo, conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, buffers, o sales) para influir en diversas propiedades, tales como, por ejemplo, presión osmótica. Otras formas adecuadas de dosificación tópica incluyen preparaciones en aerosol pulverizables en donde el ingrediente activo, en algunos casos, en combinación con un vehículo inerte sólido o líquido, se envasa en una mezcla con un volátil presurizado (por ejemplo, un propelente gaseoso, tal como freón) o en una botella a presión. Hidratantes o humectantes también se pueden añadir a las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación si se desea. Ejemplos de tales ingredientes adicionales son bien conocidos en la técnica.

Si las composiciones que comprenden anticuerpos de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, se administran por vía intranasal, se pueden formular en forma de aerosol, pulverización, neblina o en forma de gotas. En particular, los agentes profilácticos o terapéuticos para uso de acuerdo con la presente divulgación pueden administrarse convenientemente en forma de una presentación de pulverización de aerosol a partir de envases presurizados o un nebulizador, con el uso de un propulsor adecuado (por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado). En el caso de un aerosol presurizado la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para administrar una cantidad medida. Las cápsulas y cartuchos (compuestos

de, por ejemplo, gelatina) para uso en un inhalador o insuflador pueden formularse conteniendo una mezcla de polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

Métodos para la coadministración o el tratamiento con otro agente terapéutico, ej., una molécula de punto de control inmunológico, una citocina, un esteroide, un agente quimioterapéutico, un antibiótico o una radioterapia, son bien conocidos en la técnica (véase, ej., Hardman, (eds.) (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10 edición, McGraw-Hill, New York, N.Y.; Poole and Peterson (eds.) (2001) Pharmacotherapeutics for Advanced Practice: A Practical Approach, Lippincott, Williams y Wilkins, Phila., Pa.; Chabner y Longo (eds.) (2001) Cancer Chemotherapy and Biotherapy, Lippincott, Williams y Wilkins, Phila., Pa.).

Una cantidad efectiva de agente terapéutico puede disminuir los síntomas en al menos un 10 por ciento; en al menos 20 por ciento; al menos alrededor del 30 por ciento; al menos el 40 por ciento, o al menos el 50 por ciento.

Las terapias adicionales (por ejemplo, agentes profilácticos o terapéuticos), que se pueden administrar en combinación con los anticuerpos de integrina anti- $\alpha v \beta 8$ o fragmentos de unión a antígeno de la descripción, se pueden administrar con menos de 5 minutos de diferencia, menos de 30 minutos de diferencia, 1 hora de diferencia, 1 hora de diferencia aproximadamente, entre 1 y 2 horas de diferencia aproximadamente, entre 2 y 3 horas de diferencia aproximadamente, entre 3 y 4 horas de diferencia aproximadamente, entre 4 y 5 horas de diferencia aproximadamente, entre 5 y 6 horas aproximadamente de diferencia, entre 6 y 7 horas de diferencia aproximadamente, entre 7 horas y 8 horas de diferencia aproximadamente, entre 8 y 9 horas de diferencia aproximadamente, entre 9 y 10 horas de diferencia aproximadamente, entre 10 y 11 horas de diferencia aproximadamente, entre 11 y 12 horas de diferencia aproximadamente, entre 12 horas y 18 horas de diferencia, entre 18 y 24 horas de diferencia, entre 24 y 36 horas de diferencia, entre 36 y 48 horas de diferencia, entre 48 a 52 horas de diferencia aproximadamente, entre 52 y 60 horas de diferencia aproximadamente, entre 60 y 72 horas de diferencia aproximadamente, entre 72 horas y 84 horas de diferencia aproximadamente, entre 84 y 96 horas de diferencia aproximadamente, o entre 96 y 120 horas de diferencia aproximadamente de los anticuerpos de la descripción. Las dos o más terapias pueden administrarse dentro de una misma visita del paciente.

Métodos de administración de moléculas de anticuerpo son conocidos en la técnica y se describen a continuación. Las dosificaciones adecuadas de las moléculas usadas dependerán de la edad y el peso del sujeto y del fármaco particular usado. Un experto en la técnica puede determinar las dosis y regímenes terapéuticos de un anticuerpo de integrina anti- $\alpha v \beta 8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo, molécula de anticuerpo. En determinadas modalidades, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha v \beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra por inyección (ej., por vía subcutánea o intravenosa) a una dosis de aproximadamente 1 a 30 mg/kg, ej., aproximadamente 5 a 25 mg/kg, aproximadamente 10 a 20 mg/kg, aproximadamente 10 a aproximadamente 14 mg/kg, aproximadamente 5 a 9 mg/kg, aproximadamente 7 mg/kg o aproximadamente 12 mg/kg. En algunas modalidades, se administra un anticuerpo de integrina anti- $\alpha v \beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, a una dosis de aproximadamente 1 mg/kg, aproximadamente 2 mg/kg, aproximadamente 3 mg/kg, aproximadamente 4 mg/kg, aproximadamente 5 mg/kg, aproximadamente 6 mg/kg, aproximadamente 7 mg/kg, aproximadamente 8 mg/kg, aproximadamente 9 mg/kg o 10 mg/kg, aproximadamente 11 mg/kg, aproximadamente 12 mg/kg, aproximadamente 13 mg/kg, aproximadamente 14 mg/kg, aproximadamente 15 mg/kg, aproximadamente 16 mg/kg, aproximadamente 17 mg/kg, aproximadamente 18 mg/kg, aproximadamente 19 mg/kg, aproximadamente 20 mg/kg, aproximadamente 30 mg/kg, o aproximadamente 40 mg/kg. En algunas modalidades, se administra un anticuerpo de integrina anti- $\alpha v \beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, a una dosis de aproximadamente 1-5 mg/kg, aproximadamente 5-10 mg/kg o aproximadamente 10-15 mg/kg. En algunas modalidades, se administra un anticuerpo de integrina anti- $\alpha v \beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, a una dosis de aproximadamente 0,5-2, 2-4, 2-5, 2-6, 2-7, 2-8, 2-9, 2-10, 2-15, 5-15 o 5-20 mg/kg.

El esquema de dosificación puede variar desde, ej., una vez a la semana hasta una vez cada 2, 3, 4, 5 o 6 semanas. En una modalidad, se administra un anticuerpo de integrina anti- $\alpha v \beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en una dosis de aproximadamente 10 a 20 mg/kg (ej., aproximadamente 7 mg/kg o aproximadamente 12 mg/kg) cada dos semanas (ej., cada dos semanas o quincenalmente). En una modalidad, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha v \beta 8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra a una dosis de aproximadamente 10 a 20 mg/kg (ej., aproximadamente 7 mg/kg o aproximadamente 12 mg/kg) una vez al mes (ej., cada cuatro semanas). En algunas modalidades, se administra por vía intravenosa un

anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o una composición farmacéutica que lo comprende. En algunas modalidades, se administra por vía subcutánea un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o una composición farmacéutica que lo comprende.

5 En algunas modalidades, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo de la divulgación, se administra por vía intravenosa o subcutánea cada dos semanas. En una modalidad, se administra un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo de la divulgación a una dosis unitaria de aproximadamente 100 mg, aproximadamente 300 mg,
10 aproximadamente 800 mg, aproximadamente 1200 mg o aproximadamente 1600 mg por vía intravenosa o subcutánea de manera quincenal. En algunas modalidades, a un sujeto se le administra un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o fragmentos de unión a antígeno del mismo de la divulgación a una dosis unitaria de aproximadamente 100 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 1200 mg o
15 aproximadamente 1600 mg por vía intravenosa quincenalmente y se le administra un inhibidor anti-PD1 cada cuatro semanas. En algunas modalidades, un inhibidor anti-PD1 es un anticuerpo administrado por vía subcutánea a una dosis unitaria de 300 mg. En algunas modalidades, un inhibidor anti-PD1 es un anticuerpo anti-PD1 descrito en la publicación PCT número WO2016/092419 (ej., mAb7, también denominado RN888, PF-
20 06801591 o sasanlimab).

En algunas modalidades, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, o una composición farmacéutica que lo comprende, se administra aproximadamente dos veces por semana, una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas, una
25 vez cada cinco semanas, una vez cada seis semanas, una vez cada siete semanas, una vez cada ocho semanas, una vez cada nueve semanas, una vez cada diez semanas, dos veces al mes, una vez al mes, una vez cada dos meses, una vez cada tres meses, una vez cada cuatro meses, una vez cada cinco meses, una vez cada seis meses, una vez cada siete meses, una vez cada ocho meses, una vez cada nueve
30 meses, una vez cada diez meses, una vez cada once meses o una vez cada doce meses. En algunas modalidades, se administra un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo, o una composición farmacéutica que lo comprende, cada dos semanas, ej., hasta 12 veces (ej., hasta 10, 8, 6, 5, 4 o 3 veces). En algunas modalidades, se administra un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o

fragmento de unión a antígeno del mismo, o una composición farmacéutica que lo comprende, cada cuatro semanas, ej., hasta 12 veces (ej., hasta 10, 8, 6, 5, 4 o 3 veces).

5 En algunas modalidades, cada administración de un anticuerpo de integrina anti- $\alpha v \beta 8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende 5-10 mg/kg (ej., 5, 6, 7, 8, 9 o 10 mg/kg) del anticuerpo, o los fragmentos de unión a antígeno del mismo, ej., cada administración comprende aproximadamente 7 mg/kg.

10 En algunas modalidades, el anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, se administra cada cuatro semanas, ej., hasta 6 veces (ej., hasta 6, 5, 4, 3, 2 o 1 vez).

En otras modalidades, cada administración de un anticuerpo de integrina anti- $\alpha v \beta 8$, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende 10-15 mg/kg (ej., 10, 11, 12, 13, 14 o 15 mg/kg) del anticuerpo, o los fragmentos de unión a antígeno del mismo, ej., cada administración comprende aproximadamente 12 mg/kg.

15 Los anticuerpos anti- $\alpha v \beta 8$, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, de la divulgación y otras terapias pueden administrarse cíclicamente. La terapia cíclica involucra la administración de una primera terapia (por ejemplo, un primer agente profiláctico o terapéutico) durante un período de tiempo, seguido por la administración de una segunda terapia (por ejemplo, un segundo agente profiláctico o terapéutico)
20 durante un periodo de tiempo, opcionalmente, seguido por la administración de una tercera terapia (por ejemplo, agente profiláctico o terapéutico) durante un período de tiempo y así sucesivamente, y repetir esta administración secuencial, es decir, el ciclo con el fin de reducir el desarrollo de resistencia a una de las terapias, para evitar o reducir los efectos secundarios de una de las terapias, y/o para mejorar la eficacia de
25 las terapias.

En ciertas modalidades, los anticuerpos anti- $\alpha v \beta 8$, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos de la divulgación pueden formularse para asegurar una distribución adecuada in vivo. Por ejemplo, la barrera sangre-cerebro (BBB) excluye muchos compuestos altamente hidrofílicos. Para garantizar que los compuestos
30 terapéuticos de la divulgación crucen la BBB (si se desea), pueden formularse, por ejemplo, en liposomas. Para los métodos de fabricación de liposomas, véase, por ejemplo Patentes de Estados Unidos 4.522.811; 5.374.548; y 5.399.331. Los liposomas pueden comprender una o más fracciones que se transportan selectivamente en células u órganos específicos, por lo tanto mejorar la administración dirigida del fármaco

(véase, por ejemplo V.V. Ranade, 1989, J. Clin. Pharmacol. 29:685). Los restos ejemplares de orientación incluyen folato o biotina (véase, *ej.*, la Patente de Estados Unidos 5.416.016); manosidas (Umezawa, Biochem. Biophys. Res. Commun. 153: 1038); anticuerpos (P. G. Bloeman, 1995, FEBS Lett. 357: 140; M. Owais, 1995, Antimicrob. Agents Chemother. 39: 180); receptor de proteína A surfactante (Briscoe, (1995) Am. J. Physiol. 1233: 134); pl20 (Schreier, (1994) J. Biol. Chem. 269: 9090); véase también K. Keinanen; M.L. Laukkanen, 1994, FEBS Lett. 346:123; Killion; Fidler, 1994; Immunomethods 4:273.

La divulgación proporciona protocolos para la administración de la composición farmacéutica que comprende anticuerpos anti- $\alpha\beta 8$, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, de la divulgación sola o en combinación con otras terapias a un sujeto que lo necesite. Las terapias (por ejemplo, agentes profilácticos o terapéuticos) de las terapias de combinación de la presente divulgación se pueden administrar de forma concomitante o secuencial a un sujeto. La terapia (por ejemplo, agentes profilácticos o terapéuticos) de las terapias de combinación de la presente divulgación también se pueden administrar cíclicamente.

Las terapias (*ej.*, agentes profilácticos o terapéuticos) de las terapias de combinación de la divulgación se pueden administrar a un sujeto simultáneamente. El término "concurrentemente" no se limita a la administración de terapias (*ej.*, agentes profilácticos o terapéuticos) exactamente al mismo tiempo, sino que significa que una composición farmacéutica que comprende anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, de la divulgación se administran a un sujeto en una secuencia y dentro de un intervalo de tiempo tal que los anticuerpos de la divulgación o sus conjugados pueden actuar junto con la(s) otra(s) terapia(s) para proporcionar un beneficio mayor que si se administraran de otra manera. Por ejemplo, cada terapia se puede administrar a un sujeto al mismo tiempo o secuencialmente en cualquier orden en diferentes puntos en el tiempo, sin embargo, si no se administran al mismo tiempo, deben ser administrados suficientemente próximos en el tiempo a fin de proporcionar el efecto terapéutico o profiláctico deseado. Cada terapia se puede administrar a un sujeto por separado, en cualquier forma apropiada y por cualquier vía adecuada. En diversas modalidades, las terapias (por ejemplo, profiláctica o agentes terapéuticos) se administran a un sujeto en menos de 15 minutos, menos de 30 minutos, menos de 1 hora de diferencia, 1 hora de diferencia aproximadamente, entre 1 y 2 horas de diferencia aproximadamente, entre 2 y 3 horas de diferencia

aproximadamente, entre 3 y 4 horas de diferencia aproximadamente, entre 4 y 5 horas de diferencia aproximadamente, entre 5 y 6 horas de diferencia aproximadamente, entre 6 y 7 horas de diferencia aproximadamente, entre 7 y 8 horas de diferencia aproximadamente, entre 8 y 9 horas de diferencia aproximadamente, entre 9 y 10 horas de diferencia aproximadamente, entre 10 y 11 horas de diferencia aproximadamente, entre 11 y 12 horas de diferencia aproximadamente, 24 horas de diferencia, 48 horas de diferencia, 72 horas de diferencia, o 1 semana de diferencia. En otras modalidades, dos o más terapias (*ej.*, agentes profilácticos o terapéuticos) se administran a un paciente en la misma visita.

- 10 Los agentes profilácticos o terapéuticos de las terapias de combinación se pueden administrar a un sujeto en la misma composición farmacéutica. Alternativamente, los agentes profilácticos o terapéuticos de las terapias de combinación se pueden administrar concurrentemente a un sujeto en composiciones farmacéuticas separadas. Los agentes profilácticos o terapéuticos se pueden
- 15 administrar a un sujeto por las mismas o diferentes vías de administración.

VII. KITS

- La divulgación también proporciona kits que comprenden cualquiera o todos los anticuerpos descritos en este documento. Los kits de la divulgación incluyen uno o más
- 20 recipientes que comprenden un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, descrito en este documento e instrucciones de uso de acuerdo con cualquiera de los métodos de la divulgación descritos en este documento. Generalmente, estas instrucciones comprenden una descripción de la administración de un anticuerpo para los tratamientos terapéuticos descritos anteriormente. En algunas
- 25 modalidades, se proporcionan kits para producir una unidad de administración de dosis única. En ciertas modalidades, el kit puede contener tanto un primer recipiente que tiene una proteína seca como un segundo recipiente que tiene una formulación acuosa. En ciertas modalidades, se incluyen kits que contienen un aplicador, *ej.*, jeringas precargadas de una o varias cámaras (*ej.*, jeringas líquidas y liofilingas).

- 30 Las instrucciones relacionadas con el uso de un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, generalmente incluyen información sobre la dosis, el programa de dosificación y la vía de administración para el tratamiento pretendido. Los contenedores pueden ser dosis unitarias, paquetes a granel (*ej.*, paquetes de dosis múltiples) o dosis de subunidad. Las instrucciones

suministradas en los kits de la descripción son típicamente instrucciones escritas en una etiqueta o paquete de inserto (ej., una hoja de papel incluida en el kit), pero también son aceptables las instrucciones legibles por máquina (ej., instrucciones llevadas en un disco de almacenamiento magnético u óptico).

5 Los kits de esta divulgación están en un empaque adecuado. El empaque adecuado incluye, pero no se limita a, viales, botellas, jarras, empaques flexibles (ej., Mylar sellado o bolsas de plástico) y similares. También se contemplan empaques para su uso en combinación con un dispositivo específico, tal como un inhalador, dispositivo de administración nasal (ej., un atomizador) o un dispositivo de infusión tal como una
10 minibomba. Un kit puede tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo el recipiente puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tiene un tapón perforable por una aguja de inyección hipodérmica). El recipiente puede también tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo el recipiente puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tiene un tapón perforable por una aguja de inyección hipodérmica). Al
15 menos un agente activo en la composición es un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta8$ de la divulgación. El recipiente puede comprender además otro agente terapéutico como se describe en este documento.

El kit puede comprender además al menos un anticuerpo anti-PD1, como, pero sin limitarse a, nivolumab, pembrolizumab, espartlizumab, pidilizumab, tislelizumab,
20 cemiplimab, sasanlimab (mAb7, RN888, PD-06801591), AMP-224, un AMP -514.

Los kits pueden opcionalmente proporcionar componentes adicionales como tampones e información interpretativa. Normalmente, el kit comprende un recipiente y una etiqueta o paquete de inserto en o asociado con el recipiente.

La divulgación también proporciona kits de diagnóstico que comprenden
25 cualquiera o todos los anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, descritos en el presente documento. Los kits de diagnóstico son útiles para, por ejemplo, detectar la presencia de integrina $\alpha\beta8$ en una muestra. En algunas modalidades, se puede usar un kit de diagnóstico para identificar a un individuo con una enfermedad, trastorno o afección latente que puede ponerlo en riesgo de desarrollar
30 una enfermedad, trastorno o afección mediada por la integrina $\alpha\beta8$ o una enfermedad, trastorno o afección por deficiencia de integrina $\alpha\beta8$. En algunas modalidades, se puede usar un kit de diagnóstico para detectar la presencia y/o el nivel de la integrina $\alpha\beta8$ en un individuo sospechoso de tener una enfermedad mediada por la integrina $\alpha\beta8$ o una enfermedad, trastorno o afección por deficiencia de integrina $\alpha\beta8$.

Los kits de diagnóstico de la divulgación incluyen uno o más recipientes que comprenden un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, descrito en este documento e instrucciones de uso de acuerdo con cualquiera de los métodos de la divulgación descritos en este documento.

- 5 Generalmente, estas instrucciones comprenden una descripción del uso de un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, para detectar la presencia de integrina $\alpha\beta 8$ en individuos con riesgo de, o sospecha de tener, una enfermedad mediada por integrina $\alpha\beta 8$ o una enfermedad, trastorno o afección por deficiencia de integrina $\alpha\beta 8$. En algunas modalidades, se puede
- 10 configurar un kit de diagnóstico de ejemplo para que contenga reactivos tales como, por ejemplo, un anticuerpo de integrina anti- $\alpha\beta 8$, o un fragmento de unión a antígeno del mismo, una muestra de control negativo, una muestra de control positivo e instrucciones para usar el kit.

15

VIII. EQUIVALENTES

La descripción anterior y los siguientes ejemplos detallan ciertas modalidades específicas de la divulgación y describe el mejor modo contemplado por los inventores.

- 20 Sin embargo, se apreciará que no importa cuán detallado pueda aparecer lo anterior en el texto, la divulgación se puede practicar de muchas maneras y la divulgación debe interpretarse de acuerdo con las reivindicaciones adjuntas y sus equivalentes.

- Aunque las enseñanzas divulgadas se han descrito con referencia a diversas aplicaciones, métodos, kits y composiciones, se apreciará que se pueden realizar
- 25 diversos cambios y modificaciones sin apartarse de las enseñanzas de la presente y la descripción reivindicada a continuación. Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar mejor las enseñanzas divulgadas y no pretenden limitar el alcance de las enseñanzas presentadas en este documento. Si bien las presentes enseñanzas se han descrito en términos de estas modalidades ejemplares, el experto en la materia
- 30 comprenderá fácilmente que son posibles numerosas variaciones y modificaciones de estas modalidades ejemplares sin experimentación excesiva. Todas estas variaciones y modificaciones están dentro del alcance de las enseñanzas actuales.

Todas las referencias citadas en el presente documento, incluyendo patentes, solicitudes de patentes, documentos, libros de texto y similares, y las referencias allí

citadas, en la medida en que no lo son ya, se incorporan como referencia en su totalidad. En el caso de que una o más de las publicaciones incorporadas y materiales similares difieran o contradigan esta solicitud, incluidos, pero sin limitarse a, los términos definidos, utilización de términos, técnicas descritas, o similares que controla esta solicitud.

IX. TÉCNICAS GENERALES

Debe entenderse que esta invención no se limita a métodos sintéticos específicos de fabricación que, por supuesto, pueden variar. A menos que se defina lo contrario en este documento, los términos científicos y técnicos utilizados en conexión con la presente invención tendrán los significados que comúnmente se entienden por los expertos en la técnica. Además, a menos que el contexto requiera lo contrario, los términos singulares incluirán las pluralidades y los términos en plural incluirán el singular. En general, las nomenclaturas utilizadas en relación con, y las técnicas de cultivo celular y tisular, biología molecular, inmunología, microbiología, genética y química de proteínas y ácidos nucleicos, y hibridación descritas en este documento son aquellas bien conocidas y comúnmente utilizadas en la técnica.

La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de biología molecular (incluyendo técnicas recombinantes), microbiología, biología celular, bioquímica e inmunología, que están dentro de la habilidad de la técnica. Dichas técnicas se explican completamente en la literatura, como la Molecular Cloning: A Laboratory Manual, segunda edición (Sambrook, 1989) Cold Spring Harbor Press; Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R.I. Freshney, ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J.P. Mather y P.E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J.B. Griffiths, y D.G. Newell, eds., 1993-1998) J. Wiley y Sons; Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.); Handbook of Experimental Immunology (D.M. Weir y C.C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller y M.P. Calos, eds., 1987); Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel et al., eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis, eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J.E. Coligan, eds., 1991); Sambrook y Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd. ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (2001); Ausubel et

al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (2002); Harlow y Lane Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1998); Coligan et al., Short Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY (2003); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999);
5 Immunobiology (C.A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: a practical approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal antibodies: a practical approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); The Antibodies (M. Zanetti and J.D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995).

Las reacciones enzimáticas y técnicas de purificación se realizan de acuerdo a las especificaciones del fabricante, como comúnmente se realiza en el estado de la técnica, o como se describe aquí. Las nomenclaturas utilizadas en relación con los procedimientos y técnicas de laboratorio de química analítica, bioquímica, inmunología,
15 biología molecular, química orgánica sintética y química medicinal y farmacéutica descritas en el presente documento son las bien conocidas y comúnmente utilizadas en la técnica. Las técnicas estándar se utilizan para síntesis químicas, análisis químicos, preparación farmacéutica, formulación y administración, y tratamiento de pacientes.

20 **X. DEPÓSITO BIOLÓGICO**

Los materiales representativos de la presente invención se depositaron en la American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, Va. 20110-2209, EE. UU., el martes, 13 de febrero de 2018. El vector ADWA11 VH05-02 -VH, que tiene el número de acceso ATCC PTA-124917, comprende un inserto de ADN que
25 codifica la región variable de cadena pesada del anticuerpo ADWA11 2.4, también conocido como VH05-2_VK01 (2.4) y ADWA11 5-2 2.4. El vector ADWA11 VK2.4 -VL, que tiene el número de acceso ATCC PTA-124918, comprende un inserto de ADN que codifica la región variable de cadena ligera del anticuerpo ADWA11 2.4, también conocido como VH05-2_VK01 (2.4) y ADWA11 5-2 2.4.

30 Los depósitos se realizaron según las disposiciones del Tratado de Budapest sobre el Reconocimiento Internacional del Depósito de Microorganismos para el Propósito del Procedimiento de Patentes y sus Reglamentos (Tratado de Budapest). Esto asegura el mantenimiento de un cultivo viable del depósito durante 30 años a partir de la fecha de depósito. El depósito será puesto a disposición por ATCC bajo los

términos del Tratado de Budapest, y sujeto a un acuerdo entre Pfizer Inc. y ATCC, que asegura la disponibilidad permanente e irrestricta de la progenie del cultivo del depósito al público una vez emitida la patente estadounidense pertinente o tras abrir al público cualquier solicitud de patente estadounidense o extranjera, lo que ocurra primero, y
5 asegura la disponibilidad de la progenie determinada por el Comisionado de Patentes y Marcas Registradas de los EE. UU. según 35 USC Sección 122 y las normas del Comisionado en virtud de las mismas (incluida la sección 1.14 del 37 CFR, con referencia particular a 886 OG 638).

El propietario de la presente solicitud ha acordado que si un cultivo de los
10 materiales en depósito debe morir o perderse o destruirse cuando se cultiva en condiciones adecuadas; los materiales serán reemplazados rápidamente ante notificación por otros iguales. La disponibilidad del material depositado no debe interpretarse como una licencia para practicar la invención en contravención de los derechos otorgados bajo la autoridad de cualquier gobierno de acuerdo con sus leyes
15 de patentes.

EJEMPLOS

La descripción se describe adicionalmente en detalle como referencia a los siguientes ejemplos experimentales. Estos ejemplos se proporcionan para los propósitos de ilustración solamente, y no pretenden ser limitantes a menos que se
20 especifique lo contrario. Por lo tanto, la divulgación de ninguna manera debe interpretarse como limitada a los siguientes ejemplos, sino más bien, debe interpretarse que abarca cualquiera y todas las variaciones que se hacen evidentes como resultado de la enseñanza proporcionada en la presente.

Ejemplo 1: Generación de anticuerpos de hibridoma de ratón de integrina $\alpha\text{v}\beta 8$

Se generaron anticuerpos de hibridoma de ratón contra la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana de acuerdo con los métodos descritos en general en la Patente de EE.UU. N° 9.969.804, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

En resumen, se inmunizaron ratones knockout de la integrina $\beta 8$, que se cruzaron con el fondo de CD1 consanguíneo para permitir la supervivencia posnatal, con integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ humana recombinante (R&D Systems, 4135-AV-050) a una dosis de 50 μg por ratón cada dos semanas. hasta que se generaron títulos aceptables de anticuerpos anti- $\alpha\text{v}\beta 8$. Luego, los sueros de los ratones inmunizados se cribaron

mediante inmunoensayo en fase sólida para identificar los ratones para la generación de hibridomas.

Los anticuerpos de los hibridomas generados se caracterizaron además mediante citometría de flujo usando células SW480 transfectadas para expresar la integrina $\alpha\beta8$ o $\alpha\beta3$ o $\alpha\beta6$ como controles negativos. Las células Sw480 normalmente no expresan ninguna integrina $\alpha\beta$ excepto para $\alpha\beta5$. Se identificó el anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 (también conocido como ADWA11) y, para confirmar la especificidad de este anticuerpo, se realizó citometría de flujo en cada línea celular utilizando ADWA-11 marcado o anticuerpos contra $\alpha\beta5$ (Alula) o $\alpha\beta3$ (Axum-2) o $\alpha\beta6$ (10D5) (Su, Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 36:377-386, 2007; Su, Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 185: 58-66, 2012; Huang, J. Cell Sci. 111 (Pt 15): 2189-2195).

También se realizaron ensayos de adhesión celular con células U251 que expresan integrina $\alpha\beta8$ en placas recubiertas con péptido asociado a KA latencia de TGF β 1 1 $\mu\text{g/ml}$ (Kueng, Anal. Biochem. 182: 16-19, 1989). El bloqueo de la actividad de TGF β se determinó mediante el ensayo de luciferasa TMLC, que utiliza células epiteliales de pulmón de visón que expresan una porción sensible a TGF β del promotor PAI-1 que dirige la expresión de luciferasa de luciérnaga (Abe, Anal. Biochem. 216:276-284, 1994). Con base en el cribado de hibridomas realizado generalmente como se describe en este documento, se seleccionó el anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 para una evaluación adicional.

Ejemplo 2: Humanización de anticuerpos de hibridoma de ratón de integrina anti- $\alpha\text{v}\beta\text{8}$

El anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11, como se describe en la Patente de EE.UU. No. 9,969,804, y como se establece en, *ej.*, la SEC ID NO: 20-33 y 71-76 de la presente descripción, se humanizó injertando las secuencias de CDR murinas en los diversos marcos de línea germinal humana listados en la Tabla 1, que incluían los marcos de línea germinal de cadena ligera IGKV2-28, IGKV2-30, IGKV4-1, IGKV1-39 (también conocidos en el presente documento como DPK9) e IGKV3-11, así como los marcos de línea germinal de cadena pesada IGHV3-7 (también conocidos en el presente documento como DP54), IGHV1-46, IGHV3-23, IGHV3-30, IGHV1-69 e IGHV3-48 (véase, *ej.*, la *base de datos* IMGT).

Los anticuerpos humanizados a los que se hace referencia en el presente documento como "ADWA-11 humanizado" incluían un conjunto de seis secuencias de CDR murinas como se establece en las SEC ID NO: 20-33 y 71-76 injertadas en un marco de línea germinal de cadena ligera IGKV1-39 (*ej.*, DPK9) y un marco de línea germinal de cadena pesada IGHV3-7 (*ej.*, DP54). También se probaron otras variantes del marco de líneas germinales, como se muestra a continuación en las Tablas 1.1 y 1.2.

Tabla 1.1

<u>Variante</u> <u>humanizada</u>	<u>SEC ID NO</u>
ADWA11 IGHV1-46/IGKV1-39	VH: SEC ID NO: 34; VL: SEC ID NO: 65
ADWA11 IGHV1-46/IGKV2-28	VH: SEC ID NO: 34; VL: SEC ID NO: 62
ADWA11 IGHV1-46/IGKV3-11	VH: SEC ID NO: 34; VL: SEC ID NO: 66
ADWA11 IGHV1-46/IGKV2-30	VH: SEC ID NO: 34; VL: SEC ID NO: 63
ADWA11 IGHV1-46/IGKV4-1	VH: SEC ID NO: 34; VL: SEC ID NO: 64

<u>Variante</u>	<u>SEC ID NO</u>
<u>humanizada</u>	
ADWA11 IGHV1-69/IGKV1-39	VH: SEC ID NO: 37; VL: SEC ID NO: 65
ADWA11 IGHV1-69/IGKV2-28	VH: SEC ID NO: 37; VL: SEC ID NO: 62
ADWA11 IGHV1-69/IGKV3-11	VH: SEC ID NO: 37; VL: SEC ID NO: 66
ADWA11 IGHV1-69/IGKV2-30	VH: SEC ID NO: 37; VL: SEC ID NO: 63
ADWA11 IGHV1-69/IGKV4-1	VH: SEC ID NO: 37; VL: SEC ID NO: 64
ADWA11 IGHV3-30/IGKV1-39	VH: SEC ID NO: 36; VL: SEC ID NO: 65
ADWA11 IGHV3-30/IGKV2-28	VH: SEC ID NO: 36; VL: SEC ID NO: 62
ADWA11 IGHV3-30/IGKV3-11	VH: SEC ID NO: 36; VL: SEC ID NO: 66
ADWA11 IGHV3-30/IGKV2-30	VH: SEC ID NO: 36; VL: SEC ID NO: 63
ADWA11 IGHV3-30/IGKV4-1	VH: SEC ID NO: 36; VL: SEC ID NO: 64
ADWA11 IGHV3-23/IGKV1-39	VH: SEC ID NO: 35; VL: SEC ID NO: 65
ADWA11 IGHV3-23/IGKV2-28	VH: SEC ID NO: 35; VL: SEC ID NO: 62
ADWA11 IGHV3-23/IGKV3-11	VH: SEC ID NO: 35; VL: SEC ID NO: 66
ADWA11 IGHV3-23/IGKV2-30	VH: SEC ID NO: 35; VL: SEC ID NO: 63

<u>Variante</u>	<u>SEC ID NO</u>
<u>humanizada</u>	
ADWA11 IGHV3-23/IGKV4-1	VH: SEC ID NO: 35; VL: SEC ID NO: 64
ADWA11 IGHV3-48/IGKV1-39	VH: SEC ID NO: 38; VL: SEC ID NO: 65
ADWA11 IGHV3-48/IGKV2-28	VH: SEC ID NO: 38; VL: SEC ID NO: 62
ADWA11 IGHV3-48/IGKV3-11	VH: SEC ID NO: 38; VL: SEC ID NO: 66
ADWA11 IGHV3-48/IGKV2-30	VH: SEC ID NO: 38; VL: SEC ID NO: 63
ADWA11 IGHV3-48/IGKV4-1	VH: SEC ID NO: 38; VL: SEC ID NO: 64
Control quimérico ADWA11	

Tabla 1.2

Nombre	Línea germinal correspondiente	SEC ID NO:	Secuencia
ADWA1 1VH1	IGHV1-46	34	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFNIKDY <u>Y</u> MNWVRQAPGQGLEWIGWIDPDNGNTIYDQKFQ GRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAR <u>RLLMDY</u> WGQGT LVT VSS

Nombre	Línea germinal correspondiente	SEC ID NO:	Secuencia
ADWA1 1VH2	IGHV3-23	35	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDY MNWVRQAPGKGLEWIGWIDPDNGNTIYDDSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR RLLMDYWGQGTLVTVSS
ADWA1 1VH3	IGHV3-30	36	QVQLVES GGGVVQPGRSLRLSCAASGFNIKDY YMNWVRQAPGKGLEWIGWIDPDNGNTIYDDSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RLLMDYWGQGTLVTVSS
ADWA1 1VH4	IGHV1-69	37	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGFNIK DYY MNWVRQAPGQGLEWIGWIDPDNGNTIYDQKFQ GRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAR RLLMDYWGQGTLVTVSS
ADWA1 1VH5	IGHV3-48	38	EVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDY MNWVRQAPGKGLEWIGWIDPDNGNTIYDDSVK GRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR RLLMDYWGQGTLVTVSS
ADWA1 1VK1	IGKV2-28	62	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSTK SLLHFNG NTYLFWYLQKPGQSPQLLIYYMSNLASGVPDRF SGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC MQSLEY PFTFGQGTKVEIK
ADWA1 1VK2	IGKV2-30	63	DVVM TQSPLSLPVTLGQPASISCRSTK SLLHFN GNTYLFWFQQRPQGQSPRRLIYYMSNLASGVPD RFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC MQSLE YPFTFGQGTKVEIK

Nombre	Línea germinal correspondiente	SEC ID NO:	Secuencia
ADWA1 1VK3	IGKV4-1	64	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRSTKSLLHFNG NTYLFWYQQKPGQPPKLLIYYMSNLAGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCMQSLEYP ETFGQGTKVEIK
ADWA1 1VK4	IGKV1-39	65	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLLHFNG NTYLFWYQQKPGKAPKLLIYYMSNLAGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCMQSLEYP ETFGQGTKVEIK
ADWA1 1VK5	IGKV3-11	66	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRSTKSLLHFNG NTYLFWYQQKPGQAPRLLIYYMSNLAGIPARF SGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCMQSLEYP ETFGQGTKVEIK

Una alineación de secuencias que compara la región variable de la cadena pesada y las secuencias de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera del anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 (denominado "Hibridoma mADWA-11" y "mADWA11"), el anticuerpo ADWA-11 humanizado ("huADWA11-2.4"), y las secuencias de la línea germinal de IGHV3-07 e IGKV1-39 se muestran en las FIG. 1A y 1B. Los residuos de aminoácidos subrayados son las secuencias de CDR según Kabat y los residuos de aminoácidos en negrita son las secuencias de CDR según Chothia.

Ejemplo 3: Introducción de las mutaciones marco en los anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta$ 8 humanizada

Con el fin de mejorar la afinidad de unión del anticuerpo ADWA-11 humanizado por la integrina $\alpha\beta$ 8 en comparación con la afinidad de unión del anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA11, se generaron varias variantes con sustituciones e marco en la región variable de la cadena pesada (VH) y la región variable de cadena ligera

(VL), como se indica en la Tabla 2. Los residuos de cadena pesada descritos en este ejemplo se numeran de acuerdo con la SEC ID NO: 127. Los residuos de cadena ligera descritos en este ejemplo se numeran de acuerdo con la SEC ID NO: 128.

Tabla 2. Sustituciones marco introducidas en el anticuerpo ADWA11 humanizado

Variante ADWA11 Regiones VH y VL	Nombres alternativos	Sustitución(es) de aminoácidos con respecto a la SEC ID NO: 127 (para residuos de cadena pesada) y la SEC ID NO: 128 (para residuos de cadena ligera)
adwa_VH_1.1 (SEC ID NO: 88)	ADWA11 VH01	T28N, F29I
adwa_VH_1.2 (SEC ID NO: 89)	ADWA11 VH02	T28N, F29I, R72A
adwa_VH_1.3 (SEC ID NO: 90)	ADWA11 VH03	T28N, F29I, R72A, A49G, L79A
adwa_VH_1.4 (SEC ID NO: 91)	ADWA11 VH04	T28N, F29I, R72A, N74T, A75S
adwa_VH_1.5 (SEC ID NO: 39)	ADWA11 VH05 ADWA11 VH05_VK1	T28N, F29I, R72A, A49G, L79A, N74T, A75S
adwa_VL_1.1 (SEC ID NO: 47)	ADWA11 VK01 ADWA11_VK01 (1)	L46R
adwa_VL_1.2 (SEC ID NO: 92)	ADWA11 VK02	L46R, Y36F

5

Se generaron variantes de anticuerpo ADWA11 humanizado al combinar los diversos conjuntos de sustituciones de marco enumerados en la Tabla 2. Tales combinaciones dieron como resultado anticuerpos que tenían la VH de ADWA11 VH01, ADWA11 VH02, ADWA11 VH03, ADWA11 VH04 o ADWA11 VH05, y la VL de ADWA11 VK01 o ADWA11 VK02.

10

Las variantes de anticuerpos ADWA11 humanizados ADWA11 VH01/VK01, ADWA11 VH02/VK01, ADWA11 VH03/VK01, ADWA11 VH03/VK02 y ADWA11 VH05/VK01 se generaron y evaluaron como se describe en general en el presente documento.

La variante de anticuerpo ADWA11 humanizado denominada ADWA11 VH01/VK01 incluía sustituciones T28N y F29I en la VH (SEC ID NO: 88), y una sustitución L46R en la VL (SEC ID NO: 47).

La variante de anticuerpo ADWA11 humanizado ADWA11 VH02/VK01 incluyó sustituciones de T28N, F29I y R72A en la VH (SEC ID NO: 89), y una sustitución L46R en la VL (SEC ID NO: 47).

La variante de anticuerpo ADWA11 humanizado ADWA11 VH03/VK01 incluía sustituciones de T28N, F29I, R72A, A49G y L79A en la VH (SEC ID NO: 90), y una sustitución L46R en la VL (SEC ID NO: 47).

La variante de anticuerpo ADWA11 humanizado ADWA11 VH03/VK02 incluía sustituciones de T28N, F29I, R72A, A49G y L79A en la VH (SEC ID NO: 90), y sustituciones L46R e Y36F en la VL (SEC ID NO: 92).

La variante de anticuerpo ADWA11 humanizado ADWA11 VH05/VK01 incluyó sustituciones de T28N, F29I, R72A, A49G, L79A, N74T y A75S en la VH (SEC ID NO: 39) y una sustitución de L46R en la VL (SEC ID NO: 47).

Las afinidades de unión a Fab de ADWA11 VH01/VK01, ADWA11 VH02/VK01, ADWA11 VH03/VK01, ADWA11 VH03/VK02 y ADWA11 VH05/VK01 para la integrina $\alpha\beta 8$ se determinaron y se enumeran en la Tabla 3. Además, los valores de CI50 para inhibir la activación de TGF- β también se determinaron para cada anticuerpo y se enumeran en la Tabla 3.

Tabla 3. Caracterización de variantes de anticuerpos ADWA11 humanizados

Nombre(s) de anticuerpo(s)	Afinidad Fab				Ensayo de TGFB de potencia de IgG
	ka	kd	KD (M)	KD (pM)	CI50 (pM)
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 VH: SEC ID NO: 20 VL: SEC ID NO: 21 También conocido como:	9.22E+04	4.86E-05	5.36E-10	536	183 (n=3)

	Hibridoma mADWA-11					
Variantes humanizadas (DP54/DPK9)	ADWA11 VH01/VK01 VH: SEC ID NO: 88 VL: SEC ID NO: 47 También conocido como: VH01/VK01 Fab	4.13E+0 4	2.51E- 04	6.86E- 09	6860	8473 (n=2)
	ADWA11 VH02/VK01 VH: SEC ID NO: 89 VL: SEC ID NO: 47 También conocido como: VH02/VK01 Fab	1.30E+0 5	2.44E- 04	1.89E- 09	1890	1756 (n=2)
	ADWA11 VH03/VK01 VH: SEC ID NO: 90 VL: SEC ID NO: 47 También conocido como: VH03/VK01 Fab	1.36E+0 5	<1E-05	7.35E- 11	<100	138
	ADWA11 VH03/VK02 VH: SEC ID NO: 90 VL: SEC ID NO: 92 También conocido como: VH03/VK02 Fab	1.40E+0 5	5.23E- 05	3.73E- 10	370	223
	ADWA11 VH05/VK01 VH: SEC ID NO: 39 VL: SEC ID NO: 47 También conocido como: VH05-2_VK01; VH05-2_VK01 parental; y VH05/VK01 Fab	1.87E+0 5	<1E-05	5.00E- 11	<100	148 (n=3)

Como se muestra en la Tabla 3, ADWA11 VH03/VK01, ADWA11 VH03/VK02 y ADWA11 VH05/VK01 demostraron cada uno una afinidad de unión mejorada por la integrina $\alpha\beta 8$ en comparación con el anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11. ADWA11 VH03/VK01 (GBT) y ADWA11 VH05/VK01 se unieron cada uno a la integrina $\alpha\beta 8$ con una KD de menos de 100 pM, que representaba al menos un valor de KD 5 veces menor que la KD de 536 pM determinada para el anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA -11. Además, ADWA11 VH03/VK01 y ADWA11 VH05/VK01 demostraron cada uno un valor CI50 más bajo para inhibir la transactivación de TGF- β , en comparación con el anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11.

Se determinó además, como se describe generalmente en el presente documento, que ADWA11 VH05/VK01 también retuvo la actividad, especificidad y reactividad cruzada de especies del anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11. Por tanto, este ejemplo demuestra una afinidad de unión mejorada de los anticuerpos ADWA-11 humanizados por la integrina $\alpha\beta 8$ en comparación con la afinidad de unión del anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA11.

Ejemplo 4: Optimización de las variantes del anticuerpo ADWA11 humanizado

Las sustituciones de aminoácidos sencillos, como se enumeran en la Tabla 4, se evaluaron por su capacidad para mejorar la estabilidad y/o reducir la inmunogenicidad del anticuerpo humanizado ADWA11 VH05/VK01. Los residuos de cadena pesada descritos en este ejemplo se numeran de acuerdo con ADWA11 VH05 (SEC ID NO: 39). Los residuos de cadena ligera descritos en este ejemplo se numeran de acuerdo con ADWA11 VK01 (SEC ID NO: 47).

Tabla 4. Sustituciones de un aminoácido sencillo

Sustituciones de cadenas ligeras relativas a ADWA11 VK01 (SEC ID NO: 47)	Sustituciones de cadenas pesadas relativas a ADWA11 VH05 (SEC ID NO: 39)
L30S	K30A
Y55A	N55Q
M56A	N57Q
N58S	D61E
A60Q	P62A
M94Q	K63A

L97Y	F64V
F101L	
F101W	
Q105G	

Como se muestra más adelante, se encontró que las sustituciones sencillas que incluían K30A, N55Q, N57Q, D61E o P62A en la región variable de la cadena pesada, y L30S, M56A, N58S, M94Q, L97Y o Q105G en la región variable de la cadena ligera retiene la actividad de la molécula parental (FIGs. 4A-4B). Además, también se evaluaron las combinaciones de diferentes sustituciones de aminoácido sencillo que se listan en la Tabla 5, y se encontró que las secuencias de cadena pesada que contienen un mutante doble que incluye N55Q y D61E, o un mutante triple que incluye N55Q, D61E y F64V retienen la actividad de la molécula parental, como se describe más adelante en el presente documento (FIG. 4C).

Más específicamente, se generaron las variantes ADWA11 VH05/VK01 que incluyen las combinaciones de sustituciones de aminoácidos listadas en la Tabla 5, y conocidas como ADWA11 2.1 ("2.1"), ADWA11 2.2 ("2.2"), ADWA11 2.3 ("2.3") y ADWA11 2.4 ("2.4"). Se demostró que las variantes ADWA11 VH05-2/VK01 ADWA11 2.1 y ADWA11 2.4, como se describe más adelante en el presente documento, tienen propiedades de expresión y actividad más favorables. Este ejemplo demuestra que las sustituciones de aminoácido sencillo mejoraron la estabilidad y/o redujeron la inmunogenicidad del anticuerpo humanizado ADWA11 VH05/VK01.

Tabla 5. Combinaciones de sustituciones de aminoácidos

Nombre del clon	Nombre alternativo	Cadena Ligera Sustituciones relativas a ADWA11 VK01 (SEC ID NO: 47)	Cadena Pesada Sustituciones relativas a ADWA11 VH05 (SEC ID NO: 39)

Nombre del clon	Nombre alternativo	Cadena Ligera Sustituciones relativas a ADWA11 VK01 (SEC ID NO: 47)	Cadena Pesada Sustituciones relativas a ADWA11 VH05 (SEC ID NO: 39)
2,1 VH: SEC ID NO: 6 VL: SEC ID NO: 67	ADWA11 2.1 VH05-2_VK01(2.1)	L30S, M94Q, Q105G	N55Q, D61E
2,2 VH: SEC ID NO: 6 VL: SEC ID NO: 68	ADWA11 2.2 VH05-2_VK01(2.2)	L30S, L97Y, Q105G	N55Q, D61E
2,3 VH: SEC ID NO: 6 VL: SEC ID NO: 69	ADWA11 2.3 VH05-2_VK01(2.3)	L30S, M56S, M94Q, Q105G	N55Q, D61E
2,4 VH: SEC ID NO: 6 VL: SEC ID NO: 7	ADWA11 2.4 VH05-2_VK01(2.4) ADWA11 5-2 2.4	L30S, N58S, M94Q, Q105G	N55Q, D61E
2.1 (F64V) VH: SEC ID NO: 93 VL: SEC ID NO: 67	ADWA11 2.1 (F64V) VH05-2(F64V) VK01(2.1)	L30S, M94Q, Q105G	N55Q, D61E, F64V
2.2 (F64V) VH: SEC ID NO: 93 VL: SEC ID NO: 68	ADWA11 2.2 (F64V) VH05-2(F64V) VK01(2.2)	L30S, L97Y, Q105G	N55Q, D61E, F64V

Nombre del clon	Nombre alternativo	Cadena Ligera Sustituciones relativas a ADWA11 VK01 (SEC ID NO: 47)	Cadena Pesada Sustituciones relativas a ADWA11 VH05 (SEC ID NO: 39)
2.3 (F64V) VH: SEC ID NO: 93 VL: SEC ID NO: 69	ADWA11 2.3 (F64V) VH05-2(F64V) VK01(2.3)	L30S, M56S, M94Q, Q105G	N55Q, D61E, F64V
2.4 (F64V) VH: SEC ID NO: 93 VL: SEC ID NO: 7	ADWA11 2.4 (F64V) VH05-2(F64V) VK01(2.4)	L30S, N58S, M94Q, Q105G	N55Q, D61E, F64V

Ejemplo 5: Generación de anticuerpos anti- $\alpha\beta$ 8 sin función efectora

Se generaron anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta$ 8 que tienen unión reducida del receptor Fc-gamma y función efectora reducida (ej., citotoxicidad reducida mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC) y/o funciones reducidas de citotoxicidad dependiente de complemento (CDC)) al subclonar una región variable de cadena ligera y una región variable de cadena pesada de la invención, y como se listan en la Tabla 1, en una molécula de inmunoglobulina G (IgG).

Para generar anticuerpos de ratón sin función efectora, las regiones variables del anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 se subclonaron en un esqueleto IgG1 Fc de ratón que contenía sustituciones de aminoácidos sencillos de E233P, E318A, K320A y R322A como se describe en la publicación de EE. UU. No. US2009/0155256. Este anticuerpo se conoce en el presente documento ADWA-11_4mut y mIgG_4mut. La unión de ADWA-11_4mut a $\alpha\beta$ 8 de ratón se evaluó utilizando células de astrocitos de ratón C8-S (ATCC) y se determinó el bloqueo de la activación de TGF β utilizando células C8-S en un ensayo de luciferasa TMLC de cocultivo.

Para generar anticuerpos humanos sin función efectora, las regiones variables del anticuerpo humanizado ADWA11 VH05VK01 se subclonaron en un esqueleto IgG1

Fc humano (ej., como se describe en el presente documento) que contenía sustituciones de un aminoácido individual L234A, L235A y G237A en la región bisagra, de modo que la región bisagra comprendía la secuencia de aminoácidos EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAP (SEC ID NO: 126) en lugar de la secuencia de aminoácidos de la región bisagra de tipo silvestre EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP (SEC ID NO: 125). Este anticuerpo monoclonal humano sin función efectora se conoce en el presente documento como hlgG_VH05VK01.

Varias características de la cadena ligera (SEC ID NO: 123) y cadena pesada (SEC ID NO: 124) de hlgG_VH05VK01 se identifican en las siguientes secuencias.

Cadena Ligera de ADWA11 VK01

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSTKSLHFNGNTYLFWYQQKPGKAPKRLIYYMSNLASGVPSRFSGS
GSGTDFTLTISLQPEDFATYYCMQSLEYPFTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV
TKSFNRGEC (SEC ID NO: 123)

Cadena pesada de ADWA11 VH05

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDYDMNWVRQAPGKGLEWVGVWIDPDNGNTIYDPKFEQGRF
TISADTSKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCARRLLMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT
AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT
KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEC ID NO: 124)

En las secuencias de cadena ligera y cadena pesada anteriores de ADWA11VH05VK01 humanizado, las secuencias de CDR están subrayadas; el sitio de la secuencia consenso de glicosilación enlazada a N está en los residuos de aminoácidos N295, S296 y T297 de la cadena pesada; un sitio de escisión potencial está en los residuos de aminoácidos D52 y P53 de la cadena pesada; los sitios de desamidación potenciales están en los residuos de aminoácidos N33, G34, N35 y T36 de la cadena ligera, y los residuos de aminoácidos N57, T58, N77, S78, N84 y S85 de la cadena pesada; un sitio de isomerización potencial está en los residuos de aminoácidos D90 y T91 de la cadena pesada; un sitio potencial de oxidación de metionina está en los residuos de aminoácidos M4 y M56 de la cadena ligera y M34, M102 y M426 de la cadena pesada; el mutante triple de alanina está en los residuos de aminoácidos A232 A233 y A235 de la cadena pesada; y los residuos no humanos fuera

de las CDR son los residuos de aminoácidos R51 de la cadena ligera y G49, A72, T74, S75 y A79 de la cadena pesada. Los residuos en la cadena pesada y la cadena ligera descritos en este ejemplo están numerados según la SEC ID NO: 124 y la SEC ID NO: 123, respectivamente.

5

Ejemplo 6: Evaluación de anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta$ 8 por ELISA

Método ELISA

Se capturó la integrina $\alpha\beta$ 8 humana biotinilada (50 μ l de 0.6 μ g/ml) en una placa ELISA recubierta con estreptavidina. Después del bloqueo y lavado, los anticuerpos de
10 interés (ej., variantes de murino, quimera o variantes humanizadas) se agregaron a diversas diluciones a diferentes pocillos y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora. Después del lavado, se agregó el anticuerpo de detección IgG-HRP anti-humano y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Después del lavado, se agregó sustrato enzimático (TMB) para desarrollar el color durante 10 minutos. La
15 reacción enzimática se inactivó mediante la adición de ácido sulfúrico 0.16 M y la intensidad de la señal final se midió a 450 nm.

Resultados

Los anticuerpos de hibridoma de ratón confirmados para unirse a la integrina
20 $\alpha\beta$ 8 (hav β 8) humana se contrarrestaron para determinar su unión contra las integrinas $\alpha\beta$ 3 de humano y $\alpha\beta$ 6 de humano estrechamente relacionadas para seleccionar anticuerpos murinos que se unen específicamente a hav β 8. El anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA11 era específico para la integrina hav β 8 y no se unió a las integrinas hav β 3 o hav β 6 estrechamente relacionadas (FIG. 2). Sin embargo, el anticuerpo
25 ADWA11 humanizado ADWA11 VH05/VK01 mostró una afinidad sustancialmente mejorada por la integrina $\alpha\beta$ 8 en comparación con el anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA11 (FIGS. 3A-3B).

Las moléculas Fab de integrina anti- $\alpha\beta$ 8 de ADWA11 VH05/VK01 que tienen sustituciones de aminoácidos simples o combinaciones, como se enumeran en las
30 Tablas 4 y 5, también se evaluaron mediante ELISA para determinar la unión a la integrina hav β 8 (FIGS. 4A-4C). Como se muestra en la FIG. 4A, los Fab que tienen una sustitución de un aminoácido individual K30A, N55Q, N57Q, D61E, P62A o K63A en la región variable de cadena pesada retuvieron la afinidad de unión por hav β 8. Como se muestra en la FIG. 4B, los Fab que tienen una sustitución de un aminoácido

individual Y55A, A60Q, F101L o F101W en la región variable de cadena ligera mostraron una afinidad de unión reducida por $\text{hav}\beta 8$, en comparación con el anticuerpo parental. Como se muestra en la FIG. 4C, los Fab que tienen una combinación de sustituciones de aminoácidos listadas en la Tabla 5 retuvieron la afinidad de unión por $\text{hav}\beta 8$.

Este ejemplo demuestra que el anticuerpo ADWA11 humanizado ADWA11 VH05/VK01 mostró una afinidad sustancialmente mejorada por la integrina $\alpha\beta 8$ en comparación con el anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA11 y algunos Fab que tienen sustituciones de un aminoácido sencillo retuvieron la unión por $\text{hav}\beta 8$.

Ejemplo 7: Evaluación de anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$ por Biacore™

Método:

La integrina $\alpha\beta 8$ recombinante biotinilada se capturó en un chip Biacore™ recubierto con estreptavidina (GE Healthcare Life Sciences) y se midió la respuesta de unión frente al tiempo para los fragmentos Fab en una serie de concentraciones de Fab. Se obtuvieron sensogramas de Biacore™ restados de fondo representativos superpuestos con los ajustes de la curva cinética.

Más específicamente, la integrina $\alpha\beta 8$ recombinante (ej., R&D Systems) se etiquetó con biotina mediante aminas primarias y se inmovilizó en un Sensor Chip SA usando un instrumento Biacore™ T200 (GE Healthcare Life Sciences). Los experimentos de unión a Fab se realizaron a 25 °C usando una tasa de flujo de 30 $\mu\text{l}/\text{min}$ en HEPES 0.01 M pH 7.4, NaCl 0.15 M, MgCl_2 1-2 mM y tampón P20 tensioactivo (HBS-P) al 0.005% v/v. Se controló la asociación durante 5-10 minutos y la disociación durante 15-20 minutos más para cada concentración de Fab. Después de cada inyección, la superficie del chip se regeneró con tampón de elución de IgG (Thermo Fisher Scientific). Todos los datos se analizaron utilizando el software de evaluación Biacore™ T200. Los datos se restaron de fondo dual usando la célula de flujo adyacente acoplada con estreptavidina sin integrina capturada e inyecciones de tampón solamente. Se obtuvieron las constantes cinéticas para al menos tres experimentos y se reportaron como la media.

Resultados

Se evaluó la unión del anticuerpo a la integrina $\alpha\beta 8$ de varias especies. Se encontró que tanto el Fab de ADWA-11 de hibridoma de ratón como el Fab de ADWA-

11 VH05-2/VK01 (2.4) humanizado reaccionaban de forma cruzada con la integrina $\alpha\beta 8$ de otras especies. El hibridoma de ratón ADWA-11 Fab reaccionó de forma cruzada con la integrina $\alpha\beta 8$ humana, integrina $\alpha\beta 8$ de mono *cynomolgus* e integrina $\alpha\beta 8$ de ratón. El Fab de ADWA-11 VH05-2/VK01 (2.4) humanizado reaccionó de
5 manera cruzada con la integrina $\alpha\beta 8$ humana, integrina $\alpha\beta 8$ de mono *cynomolgus* e integrina $\alpha\beta 8$ de ratón. Además, se evaluó la capacidad de estos anticuerpos para unirse a las integrinas $\alpha\beta 3$ o $\alpha\beta 6$ relacionadas. Estos anticuerpos eran específicos para $\alpha\beta 8$ y no se unieron a las integrinas $\alpha\beta 3$ o $\alpha\beta 6$ estrechamente relacionadas en un ensayo Biacore, como se muestra en la FIG. 5.

10 Una comparación de las medidas de afinidad listadas en la Tabla 6 muestra que el Fab de ADWA-11 humanizado tenía una KD más baja para unirse tanto a la integrina $\alpha\beta 8$ humana como a la integrina $\alpha\beta 8$ de ratón, en comparación con la KD del Fab de ADWA-11 de hibridoma de ratón para unirse a la integrina $\alpha\beta 8$ humana e integrina $\alpha\beta 8$ de ratón. Más específicamente, el Fab de ADWA-11 humanizado tenía
15 aproximadamente una KD 2.5 veces menor para unirse a la integrina $\alpha\beta 8$ humana y aproximadamente una KD 3.5 veces menor para unirse a la integrina $\alpha\beta 8$ de ratón, en comparación con los valores de KD respectivos del Fab ADWA-11 de hibridoma de ratón. Estos datos muestran una mejora sustancial general de la afinidad por el anticuerpo anti- $\alpha\beta 8$ humanizado sobre el anticuerpo de hibridoma de ratón (FIG. 6A-
20 6B y Tabla 6).

Para evaluar la KD monomérica del Fab ADWA11 2.4, también denominado en el presente documento ADWA-11 VH05-2/VK01 (2.4) y ADWA11 5-2 2.4, y la IgG de ratón parental, se inmovilizó la $\alpha\beta 8$ recombinante de humano, *cynomolgus*, ratón y rata en un chip Biacore y se determinaron la k_a y k_d de los Fab como se describe en
25 general en el presente documento (Tabla 6). ADWA11 2.4 demostró una afinidad equivalente por la $\alpha\beta 8$ de humano, *cynomolgus*, ratón y rata con una KD de <200 pM, sin embargo, debido a la muy lenta k_d , no fue posible la determinación precisa de KD. La IgG de ratón parental demostró una KD de afinidad equivalente por la $\alpha\beta 8$ de humano, *cynomolgus* y ratón (KD de 489-536 pM) (no se ensayó la de rata) (FIG. 6C).

30 Experimentos adicionales de Biacore refinaron los valores estimados de KD para ADWA11 2.4 a una KD de <100 pM para humanos y *cynomolgus* $\square v \square 8$ y 70.8 ± 19.9 pM (promedio $\pm$ desviación estándar) para ratones $\square v \square 8$.

Tabla 6. Afinidad de especies de integrina $\alpha v \beta 8$ según la evaluación de Biacore (n ≥ 3)

Fab	especies $\alpha v \beta 8$	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD
Anticuerpo de hibridoma de ratón ADWA-11 También conocido en la presente como: ADWA11 de ratón	humano	9.22E+04	4.86E-05	5.36E-7M
	ratón	1.03E+05	5.03E-05	4.89E-7M
	cyno	9.81E+04	4.97E-05	5.07E-7M
ADWA11 5-2 2.4 También conocido como: ADWA11 2.4 VH05-2_VK01(2.4)	humano	1.61E+05	$\leq 3E-05$	$\leq 2E-010$
	cyno	1.72E+05	$\leq 2E-05$	$\leq 2E-010$
	ratón	2.57E+05	1.82E-05	$\leq 2E-010$
	rata	3.41E+05	$\leq 2E-05$	$\leq 2E-010$
ADWA11 humanizado	humano	1.73E+05	3.61E-05	2.09E-7M
	ratón	1.77E+05	2.43E-05	1.37E-7M
ADWA11 VH05-2_VK01 VH: SEC ID NO: 39 VL: SEC ID NO: 47 También conocido como: ADWA11 VH05/VK01	humano	2.00E+05	2.37E-05	1.18E-10 M
	ratón	2.20E+05	$\leq 2E-5$	$\leq 1E-10$ M
	rata	1.94E+05	3.10E-05	1.60E-10 M

VH05-2_VK01; VH05-2_VK01 parental; y VH05/VK01 Fab	cyno	2.25E+05	$\leq 2E-5$	$\leq 1E-10$ M
--	------	----------	-------------	----------------

Para evaluar la especificidad de ADWA11 2.4, se inmovilizó la $\alpha\beta 6$ y $\alpha\beta 3$ recombinante de humano en un chip Biacore y se determinó la unión de la variante de mAb parenteral murino y humanizado de ADWA11 2.4. El hibridoma parental y el mAb humanizado no se unieron a $\alpha\beta 3$ ni a $\alpha\beta 6$, mientras que se observó la unión a $\alpha\beta 8$ en experimentos Biacore separados. Se usó un anticuerpo de pan-integrina αV para demostrar la inmovilización de la proteína recombinante $\alpha\beta 3$ o $\alpha\beta 6$ en el chip Biacore. Por tanto, este ejemplo también demuestra la especificidad del anticuerpo humanizado por $\alpha\beta 8$.

Ejemplo 8: Evaluación de anticuerpos de integrina anti- $\alpha\beta 8$ en ensayos de unión celular

Métodos

Se realizaron experimentos de unión celular con células de glioblastoma humano U251 (Sigma) o C8-S (ATCC) cultivadas en MEM hiFBS al 10%. Las células cultivadas hasta una confluencia del 70-90% se separaron con tripsina al 0.05% y se lavaron dos veces con PBS que contenía BSA al 2%.

Para experimentos de unión celular con células HEK 293-F que sobreexpresan $\alpha\beta 3$, $\alpha\beta 5$, $\alpha\beta 6$, $\alpha\beta 8$ humano. Las células HEK293-F que expresan de manera transitoria la integrina beta 3 humana de longitud completa (número de acceso NP_000203.2), integrina beta 5 humana (número de acceso NP_002204.2), integrina beta 6 humana (número de acceso NP_000879.2) o integrina beta 8 humana (número de acceso NP_002205.1) se prepararon utilizando vectores del propietario y protocolos proporcionados por el proveedor. Las células se recolectaron después de los 4 días y se analizaron para la expresión de integrina. Para caracterizar la expresión de la integrina $\alpha\beta 3$, $\alpha\beta 5$, $\alpha\beta 6$, $\alpha\beta 8$ se incubaron 100.000 células en los anticuerpos del propietario indicados disponibles comercialmente o directamente conjugados durante 30 minutos, junto con tinción celular fijable LIVE/DEAD (Invitrogen) a 1:2000 para distinguir las células vivas. Las células se centrifugaron durante cinco minutos a 300 g de fuerza. Luego, las células se lavaron dos veces con tampón de lavado (PBS + BSA al 0.2%) para eliminar el exceso de anticuerpos no unidos y se analizaron en el

citómetro de flujo BD de biosciences Fortessa.

Protocolo de unión a células vivas: Se incubaron 100.000 células con una serie de diluciones del anticuerpo anti- $\alpha\beta 8$ o del isotipo IgG1_3mut humano durante tres a cuatro horas en hielo. Las células se centrifugaron durante cinco minutos a 300 g de fuerza. Luego, las células se lavaron tres veces con tampón de lavado (PBS + BSA al 0.2%) para eliminar el exceso de anticuerpos no unidos. Después de un lavado a fondo, las células se incubaron con Fab'2 Fc-PE anti-humano (Invitrogen) o Fab'2 de cabra anti-ratón-APC (Jackson Labs) a una dilución de 1:1000 junto con tinción celular fijable LIVE/DEAD (Invitrogen) a 1:2000 para distinguir las células vivas. Todo el contenido se incubó durante 30 minutos en hielo. Después del lavado, las células teñidas se analizaron en un citómetro de flujo BD de biosciences Fortessa (controlado para células vivas) utilizando el software de análisis FlowJo. Las intensidades de fluorescencia media (MFI) a diferentes concentraciones de anticuerpos se representaron gráficamente para varios anticuerpos.

Protocolo de unión celular fijo: En algunos casos, se realizaron experimentos de unión celular con células de glioblastoma humano U251 (Sigma) cultivadas en MEM o hiFBS al 10%. Las células cultivadas hasta una confluencia del 70-90% se separaron con tripsina al 0.05% y se lavaron dos veces con PBS que contenía BSA al 2%. Se incubaron U251 (25.000 células) con tinción celular fijable LIVE/DEAD (Invitrogen) a 1:2000 para distinguir las células vivas. Las células se centrifugaron durante 5 minutos a una fuerza de 300 g y se lavaron con tampón de lavado (PBS + BSA al 0.2%), seguido de fijación con paraformaldehído al 2% durante 10 minutos a temperatura ambiente. Las células fijadas se lavaron dos veces con tampón de lavado, seguido de la adición de una serie de diluciones de anticuerpo anti- $\alpha\beta 8$ de interés durante 1 hora a 37 grados. Las células se lavaron tres veces con tampón de lavado para eliminar el exceso de anticuerpos no unidos. Después del lavado a fondo, se agregó Fab'2 anti-Fc-PE humano (Invitrogen) o anticuerpo de detección de APC de cadena ligera Kappa anti-humana (Invitrogen) a diluciones 1:1000 y se incubó durante 30 minutos en hielo. Después del lavado, las células teñidas se analizaron en un citómetro de flujo BD de biosciences Fortessa (controlado para células vivas) utilizando el software de análisis FlowJo. Las intensidades de fluorescencia media (MFI) a diferentes concentraciones de anticuerpos se representaron gráficamente para varios anticuerpos.

Resultados

Se obtuvieron datos fijos de unión de células U251 para Fabs ADWA11 VH05/VK01 con sustituciones de un aminoácido individual en la región variable de cadena pesada, incluido F64V, o la región variable de cadena ligera, incluidos L30S, M94Q, L97Y, F101L, F101W o Q105G, o una combinación de sustituciones de aminoácidos conocidas como 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.1 (F64V), 2.2 (F64V), 2.3 (F64V) y 2.4 (F64V) en la Tabla 5 y se compararon con el anticuerpo parental (FIGS. 7A-7C).

También se obtuvieron datos de unión a células U251 para los anticuerpos mlgG_4mut e hlgG_VH05VK01 (también denominados ADWA11 2.4 y descritos con más detalle en el Ejemplo 5) (FIG. 8). La afinidad aparente de mlgG_4mut y hlgG_3mut_VH05VK01, por las células U251 se muestra a continuación en la Tabla 7. Estos datos demuestran que se determinó que hlgG_3mut_VH05VK01 tenía una mayor afinidad en comparación con mlgG_4mut.

Tabla 7. Valores de afinidad del ensayo de unión celular U251

Anticuerpo ADWA11	U251 app K_D (pM)
mlgG_4mut	823
hlgG_3mut_VH05VK01	430

La afinidad aparente de ADWA11 2.4 por las células U251 (glioblastoma humano) o C8-S (astrocito de ratón) también se evaluó en un ensayo de unión celular, de acuerdo con los métodos descritos en general en el presente documento. Brevemente, las células se incubaron con una dilución en serie de ADWA11 2.4 durante 4 horas en hielo, seguido de la detección del anticuerpo unido con un anticuerpo secundario anti-PE humano, y se analizaron mediante citometría de flujo. ADWA11 2.4 demostró unión saturable a células que expresan $\alpha\beta 8$ humano y $\alpha\beta 8$ de ratón, con una EC50 promedio en el ensayo de unión celular U251 ($\alpha\beta 8$ humano) de 126 pM con una desviación estándar de más o menos 34 pM (FIG. 9A; $n = 3$).

En estudios adicionales, se determinó que la EC50 de la unión de ADWA11 VH05-2/VK01 (2.4) a células U251 humanas era de 256 ± 115 pM (media $\pm$ desviación estándar en siete experimentos independientes) y se determinó que la unión a células C8-S de ratón era sea 145 ± 23.7 pM (media $\pm$ desviación estándar en cuatro experimentos independientes).

Experimentos de unión a células HEK293F con miembros de la familia de integrina sobreexpresada transitoriamente □□ demuestran que ADWA11 2.4 se une específicamente a células que expresan □v□8 humano, pero no □v□3, □v□5, o □v□6 (FIG. 9B). Por tanto, ADWA11 2.4 demostró características mejoradas en comparación con el anticuerpo parental de ratón ADWA11, lo que sugiere que el ADWA11 2.4 humanizado es un potencial agente terapéutico humano mejorado.

Ejemplo 9: Evaluación de anticuerpos de integrina anti- α v β 8 en ensayos de activación de TGF- β inducida por α v β 8

El efecto de los anticuerpos anti- α v β 8 sobre la transactivación de la vía TGF β se midió utilizando células reporteras U251-MG (Sigma) y Mv1Lu-SMAD-luciferasa. En algunos experimentos, se utilizaron células de astrocitos de ratón C8-S en lugar de células U251. Brevemente, se transdujeron las células de la línea celular epitelial de pulmón de visón MvLu1 (ATCC) con partículas lentivirales reporteras (luc) de Cignal SMAD (SABioscience) con una multiplicidad de infección (MOI) de 50. Se generaron líneas celulares estables que expresaban el constructo de luciferasa de luciérnaga SMAD cultivando las células en el medio de crecimiento completo (MEM más suero bovino fetal (FBS) al 10% con L-glutamina + penicilina/estreptomicina) suplementado con 2 μ g/ml de puomicina. Para el experimento, se agregaron células U251 (5000 células en 50 μ L en medio MEM que contenía FBS al 2% con carbón activo) a cada pocillo de una placa de 96 pocillos de fondo transparente y paredes blancas tratadas con TC y se incubaron durante 1 hora a 37 °C. Se preparó una serie de diluciones de anticuerpos anti- α v β 8, ej., anticuerpos FAB, en medio MEM que contenía FBS extraído con carbón al 2% y se añadió a las células U251 en placa, 25 μ l por pocillo. Después de una hora de incubación, se agregaron células reporteras de luciferasa Mv1Lu-SMAD (5000 células/pocillo en 25 μ L) a cada pocillo y después de 18 horas de incubación a 37 °C se midió la actividad de luciferasa usando el reactivo Bright Glo (Promega) de acuerdo con al protocolo sugerido por los fabricantes. La luminiscencia se midió utilizando un lector de placas Envision con un tiempo de integración de 1s.

Resultados

La actividad inhibidora de varios anticuerpos sobre la transactivación de TGF- β inducida por α v β 8 de las células U251 se controló al evaluar la actividad de luciferasa disminuida (FIG. 10A-10F).

La FIG. 10A representa una comparación de anticuerpos generados como se describe en el Ejemplo 3, e incluye una comparación entre ADWA11 VH05/VK01 (también denominado VH05-VK01 Fab) con el anticuerpo parenteral de hibridoma de ratón ADWA11 (mFab). El valor de EC50 medido por la afinidad aparente en el ensayo de transactivación de TGF- β mejoró de 4.6 nM para el anticuerpo parenteral de hibridoma de ratón ADWA11 (mFab) a 1.3 nM para ADWA11 VH05/VK01 (también denominado VH05-VK01 Fab).

También se evaluó el impacto de las sustituciones de aminoácidos realizadas en la región variable de cadena pesada o en la región variable de cadena ligera de ADWA11 VH05/VK01 sobre la transactivación de TGF β por las células U251 (FIG. 10B-10D). Los Fab que tenían una sustitución de un aminoácido individual F101L o F101W en la región variable de cadena ligera mostraron una transactivación reducida de TGF β , en comparación con el Fab ADWA11 VH05/VK01.

También se monitoreó una comparación del efecto de las moléculas de IgG de ADWA-11 humanizadas sobre la transactivación de TGF- β inducida por $\alpha\beta$ 8 de células U251 usando el ensayo de actividad de la luciferasa (FIG. 10E). Estos datos muestran que los mutantes VH05/VK01-D61E y -N55Q-D61E tienen efectos comparables sobre la transactivación de TGF β .

Para evaluar la potencia de ADWA11_VH05-2_VK01 (2.4), denominado alternativamente en el presente documento como ADWA11 2.4, se estableció un sistema de cocultivo con células humanas y de ratón que expresan endógenamente $\alpha\beta$ 8 con un sistema de células reporteras de la luciferasa sensible a TGF β . Brevemente, las células U251 (glioblastoma humano) o C8-S (astrocito de ratón) se colocaron en placas con células epiteliales de pulmón de visón (Mv1Lu) transducidas de manera estable con partículas lentivirales reporteras de Cignal SMAD (luc) (SABioscience) con una multiplicidad de infección (MOI) de 50 (células Mv1Lu-Smad). Las células Mv1Lu-Smad responden al TGF β generado por las células U251 o C8-S, y la inhibición de la función $\alpha\beta$ 8 puede controlarse mediante una disminución de la actividad de la luciferasa. La FIG. 10F muestra el efecto de ADWA11 2.4 sobre la transactivación de TGF β por células U251 y C8-S, en comparación con un anticuerpo de control de isotipo negativo.

Estos datos demuestran que ADWA11 2.4 es un inhibidor más potente de la transactivación de TGF- β inducida por $\alpha\beta$ 8 que otros anticuerpos, incluido el anticuerpo monoclonal ADWA11 de ratón. Se determinó que la CI50 para ADWA11

VH05-2/VK01 (2,4) en el ensayo de transactivación de TGF β con células U251 era 199 $\pm$ 93.6 pM (media $\pm$ desviación estándar en cinco experimentos independientes).

Ejemplo 10: Evaluación de la inmunogenicidad de anticuerpos de integrina anti- $\alpha v \beta 8$

La importancia funcional de los péptidos de unión al complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) se evaluó mediante un ensayo de proliferación de células T. CD4, una glicoproteína de transmembrana expresada en células T auxiliares, reconoce péptidos unidos a moléculas MHC de clase II en la superficie de las células presentadoras de antígeno (APC). Esta interacción da como resultado la proliferación de células T auxiliares que conducen a una respuesta inmunitaria. La proliferación de células T se controló mediante una disminución en la intensidad de fluorescencia de las células individuales que contenían el colorante de éster succinimidílico de carboxifluoresceína (CFSE). El ensayo de células T del sistema de inmunogenicidad REVEAL® de ProImmune utiliza métodos de citometría de flujo para analizar la división de células marcadas con colorante CFSE. Se incubaron PMBC de varios donantes con CFSE para formar conjugados fluorescentes intracelulares. La intensidad de la fluorescencia de CFSE se reduce a la mitad a través de cada división celular consecutiva, lo que permite medir la proliferación celular. Este ensayo de células T marcado con CFSE fiable y reproducible es útil para determinar los epítomos potenciales de las células T CD4 en péptidos presentados por MHCII. Se utilizaron controles de péptidos derivados de influenza/tétanos y derivado proteico purificado de tuberculina (PPD) como controles positivos para la proliferación celular.

Se probaron veintinueve péptidos que abarcan las CDR con PBMC derivadas de 51 donantes para determinar la proliferación de células T (Tabla 1, SEC ID NO: 94-122). Las PBMC marcadas con CFSE se incubaron con péptidos de prueba durante siete días y se controló el grado de proliferación de las células T CD4+ mediante el método de citometría de flujo. El número de respondedores para el péptido derivado de la molécula optimizada se comparó con el número de respondedores para los péptidos de secuencia de la línea germinal correspondientes.

En este estudio se utilizaron antígenos de referencia que comprenden epítomos conocidos de MHC de clase II.

El derivado proteico purificado de tuberculina (PPD) es un derivado de mycobacterium tuberculosis y se utilizó a una concentración de ensayo final de 5 μ g/ml. Se espera que

aproximadamente el 70-100% de los donantes de PBMC reaccionen a esta proteína como resultado de una vacunación previa, es decir, a través de una respuesta inmune de memoria.

La hemocianina de lapa californiana (KLH) es un inmunógeno proteico conocido y potente que se utiliza en el ensayo a una concentración final de 0.25 mg/ml. Por lo general, se puede esperar que entre el 50 y el 80% de los donantes reaccionen a esta proteína, presumiblemente impulsado por una respuesta inmune virgen.

El péptido sintético HA se deriva de la hemaglutinina de la influenza A (PKYVKQNTLKLAT, residuos 307-3192; SEC ID NO: 129) y se usa a una concentración de ensayo final de 5 μ M. Se espera que se obtenga una respuesta en hasta el 50% de los donantes.

El péptido sintético TT (AQYIKANSKFIGITEL (SEC ID NO: 130), el epítipo TET 830 modificado/T-auxiliar del toxoide tetánico) es un epítipo universal de células T de toxina tetánica humana que induce la activación de las células T y se utiliza como péptido auxiliar en las vacunas. Este se utilizó a una concentración de ensayo final de 5 μ M, y se esperaba que respondieran hasta el 45% de los donantes.

La sustitución de F64V (SEC ID NO: 105) en la cadena pesada aumenta la inmunogenicidad. Once de 51 PBMC de donantes respondieron en el ensayo de proliferación de células T CD4+ y ninguno de los donantes fue sensible a la secuencia de la línea germinal correspondiente. Se encontró que otras sustituciones que incluyen Q105G (SEC ID NO: 111), L30S (SEC ID NO: 106), M94Q (SEC ID NO: 107), y N58S (SEC ID NO: 113) reducen la inmunogenicidad cada una en un grado diferente, como se muestra en la Tabla 8. El porcentaje de respondedor para diferentes péptidos CDR en comparación con péptidos de control positivo se da en la FIG. 11.

Tabla 8

	Número de respondedores[#] para péptidos correspondientes a diferentes sustituciones	
sustitución	Original	Después de la sustitución

F64V	0	11
Q105G	6	3
L30S	6	0
M94Q	6	0
N58S	5	3

#número de donantes de PBMC respondieron en el ensayo de proliferación de células T CD4+

Estos datos demuestran que ciertos anticuerpos de la invención, incluido ADWA11 2.4, exhiben respuestas de células T disminuidas en comparación con el mAb parental de ratón ADWA11. Estos resultados sugieren que ADWA11 2.4 es un potencial agente terapéutico humano mejorado en comparación con su anticuerpo parental de ratón.

Ejemplo 11: Inhibición de $\alpha\text{v}\beta 8$ mejora la eficacia de la terapia anti-PD-1 en el modelo de tumor EMT6

Métodos

En este estudio, se implantaron 3×10^5 células EMT6 (ATCC) en la cuarta almohadilla de grasa mamaria o por vía subcutánea en ratones Balb/c (Laboratorio Charles River). Los ratones se asignaron al azar en grupos de tratamiento cuando sus tumores alcanzaron un promedio de 50 mm^3 y luego se inició el tratamiento. Para el tratamiento, los ratones recibieron una dosis de 10 mg/kg de los anticuerpos indicados 2A3_rat IgG ("2A3"; BioXcell), anticuerpo anti-PD-1 ("PD1"; clon RMP1-14, BioXcell), 2B8_mIgG1_4mut ("2B8"), o ADWA11_mIgG1_4mut (ADWA11) por inyección intravenosa cada cuatro días para un total de tres administraciones de la dosis. Los tumores se midieron en dos dimensiones para controlar el crecimiento, donde el volumen (V) = $\frac{1}{2} L \times W^2$, y L (longitud) se define como el diámetro más largo del tumor y W (ancho) es perpendicular a L. Se registraron las mediciones del tumor 2-3 veces por semana hasta el final del estudio.

Resultados

La anti- $\alpha\text{v}\beta 8$ (ADWA11) en combinación con la terapia anti-PD1 (ADA11 + PD1) disminuyó de manera sinérgica y significativa el crecimiento tumoral y mejoró la supervivencia sobre los grupos de tratamiento en monoterapia anti-PD1 o anti- $\alpha\text{v}\beta 8$ (FIGs. 12A y 12B).

En el grupo de dosis de monoterapia de 10 mg/kg, el tratamiento con ADWA11 resultó en una inhibición del crecimiento tumoral (TGI) del 47.1% el día 13 del estudio; sin embargo, el TGI fue transitorio y ningún ratón alcanzó el final del estudio (0% de supervivencia en el día 51). El tratamiento en monoterapia anti-PD1 dio como resultado un TGI del 15% en el día 14 del estudio y ningún ratón alcanzó el final del estudio (0% de supervivencia el día 51). En comparación, ADWA11 (grupo de dosis de 10 mg/kg) en combinación con el anticuerpo anti-PD-1 dio como resultado un TGI del 90.0% en el día 14 del estudio y un 60% de los ratones llegaron al final del estudio (60% de supervivencia en el día 51).

Estos resultados demuestran por primera vez que los anticuerpos ADWA11, incluido ADWA11 2.4, proporcionan un efecto terapéutico sinérgico cuando se combinan con un inhibidor de PD-1, por ejemplo, un anticuerpo anti-PD-1. Estos datos sugieren que ADWA11 2.4 es un potencial terapéutico humano que puede proporcionar una respuesta terapéutica antitumoral sinérgica cuando se combina con un inhibidor de PD-1.

Ejemplo 12: La inhibición de $\alpha\beta 8$ mejora la eficacia de la terapia 4-1BB y anti-CTLA4 en el modelo EMT6

Métodos

En este estudio de eficacia tumoral EMT6, se implantaron 1×10^6 células EMT6 (ATCC) en la cuarta almohadilla de grasa mamaria en ratones Balb / c (Laboratorio Charles River). Los ratones se asignaron al azar cuando los tumores alcanzaron un promedio de 100 mm³ y se inició el tratamiento. Los ratones recibieron i.v. dosis de 4-1BB (MAB9371 R&D Systems, 1 mg/kg Día 0 y Día 4), anti-CTLA4 (clon 9D9 BioXcell, 10 mg/kg Día 0, Día 4 y Día 8), anti- $\alpha\beta 8$ (ADWA11, 10 mg/kg día 0, día 4 y día 8), 2B8_mIgG_4mut (10 mg/kg, día 0, día 4 y día 8), o 2A3_rat IgG (BioXcell, 10 mg/kg día 0, día 4 y día 8). Los tumores se midieron en dos dimensiones para controlar el crecimiento, donde el volumen (V) = $\frac{1}{2} L \times W^2$, y L (longitud) se define como el diámetro más largo del tumor y W (ancho) es perpendicular a L. Se registraron las mediciones del tumor 2-3 veces por semana hasta el final del estudio.

Análisis de inmunohistoquímica (IHC): Secciones de tejido tumoral incrustadas en parafina fijadas con formalina (FFPE) de 4 mm de grosor para la expresión de CD8, CD45 y granzima B mediante protocolos personalizados y tinción IHC automática Leica Bond-max. Las imágenes se adquirieron en un escáner digital de portaobjetos completo

Leica / Aperio AT2 utilizando el ajuste de aumento de 20X. Las imágenes se analizaron utilizando algoritmos personalizados creados en el software Visiopharm 7.2 y optimizados para cada objetivo de interés. El recuento de células se llevó a cabo en el tejido viable y se normalizó por el área de tejido viable. La densidad celular se calculó utilizando la siguiente ecuación: $\text{Células} / \mu\text{m}^2 = (\# \text{ Células positivas} / \text{Área de tumor viable} (\mu\text{m}^2)) * 1 \times 106$. El porcentaje de densidad de objetos se calculó mediante la siguiente ecuación: $\text{Área de tinción} (\mu\text{m}^2) / \text{Área de tumor viable} (\mu\text{m}^2)$.

Resultados

Anti- $\alpha\beta 8$ (ADWA11) en combinación con anti-4-1BB o anti-CTLA4 disminuyó de manera significativa y sinérgica el crecimiento tumoral y mejoró la supervivencia con respecto a los grupos de tratamiento de monoterapia anti-4-1BB, anti-CTLA4 o anti- $\alpha\beta 8$ (FIG. 13).

Se evaluaron cambios en la densidad celular tumoral infiltrante después del tratamiento con el anticuerpo anti- $\alpha\beta 8$ (FIG. 15). La abundancia de linfocitos se cuantificó en el modelo tumoral EMT6 mediante el análisis IHC de densidad de tinción de CD45 (linfocitos totales y células mieloides), CD3 (células T totales), células T CD4, células T CD8 y granzima B (células CD8 y NK activadas). Estos datos demostraron que la monoterapia anti- $\alpha\beta 8$ aumentó la abundancia de las células CD45 + totales, células T CD4 + y células T CD8 +, y dio como resultado un aumento muy significativo en la densidad de las células que expresan granzima B (n = 10 para cada grupo).

La abundancia de linfocitos tumorales en tejido tumoral se analizó en el día 11 (tratamiento con anticuerpos los días 0, 3, 6, 9) de ratones tratados con control de isotipo o ADWA11 (2.4) (FIG. 15). El tratamiento con ADWA11 (2.4) aumentó la densidad de leucocitos totales (CD45+, 1540 ± 558 vs 2470 ± 407), célula T CD8 (CD8+, 76.3 ± 62.7 vs 170 ± 74.2) y células citotóxicas (% de densidad de granzima B, 11.8 ± 11.0 vs 106 ± 35.1) en el microambiente tumoral (número medio de células CD45+, número medio de células CD8+ o porcentaje medio del área de tinción de granzima B por $\text{mm}^2 \pm$ desviación estándar en el tratamiento con isotipo frente a ADWA11 (2.4)).

Estos resultados demuestran por primera vez que los anticuerpos ADWA11, incluido ADWA11 2.4, proporcionan un efecto terapéutico sinérgico cuando se combinan con un agonista de 4-1BB, ej., un anticuerpo anti-4-1BB. Estos datos sugieren que ADWA11 2.4 es un potencial agente terapéutico humano que puede

proporcionar una respuesta terapéutica antitumoral sinérgica cuando se combina con un agonista de 4-1BB.

Estos resultados demuestran por primera vez que los anticuerpos ADWA11, incluido ADWA11 2.4, proporcionan un efecto terapéutico sinérgico cuando se combinan con un inhibidor de CTLA4, ej., un anticuerpo anti-CTLA4. Estos datos sugieren que ADWA11 2.4 es un potencial agente terapéutico humano que puede proporcionar una respuesta terapéutica antitumoral sinérgica cuando se combina con un inhibidor de CTLA4.

10 **Ejemplo 13: Inhibición de $\alpha\beta 8$ mejora la eficacia de la radioterapia en el modelo de tumor CT26**

Métodos

estudio de la eficacia tumoral CT26: Se implantaron 4×10^5 células CT26 (ATCC) por vía subcutánea en el flanco de ratones Balb/c (Charles River Laboratory). Los ratones se asignaron al azar cuando los tumores alcanzaron un promedio de 100 mm³ y se inició el tratamiento. Los ratones recibieron dosis i.v. de 10 mg/kg cada 4 días, 3 dosis totales, de control de isotipo 2B8_mIgG1_4mut (interno) o ADWA11_mIgG1_4mut, y una dosis única de radiación dirigida al tumor 5Gy el día 5 después de la primera dosis. Los tumores se midieron en dos dimensiones para controlar el crecimiento, donde el volumen (V) = $\frac{1}{2} L \times W^2$, y L (longitud) se define como el diámetro más largo del tumor y W (ancho) es perpendicular a L. Se registraron las mediciones del tumor 2-3 veces por semana hasta el final del estudio.

Análisis de qPCR de expresión génica: se recolectó tejido tumoral y se homogeneizaron 30 mg de tejido en 900 μ L de tampón de lisis suministrado en el Mini Kit RNeasy Plus, utilizando Omin Bead Ruptor. El ARN de muestras tumorales homogeneizadas se aisló utilizando el Mini Kit RNeasy Plus y los protocolos recomendados por el proveedor. El ADNc se sintetizó utilizando 2 μ g de ARN total y el kit de transcripción inversa de ADNc de alta capacidad, utilizando los protocolos recomendados por el proveedor. La expresión génica se analizó utilizando 50 ng de ADNc y cebadores taqman específicos a genes, TaqMan Universal Master Mix II y protocolos recomendados por el proveedor. El sistema de qPCR en tiempo real ViiA7 se utilizó para los estudios de qPCR. Los ciclos de umbral (CT) para cada muestra se analizaron utilizando el método de CT comparativo recomendado y la expresión de genes objetivo se reportó como cambio de plegado del grupo de tratamiento en

comparación con el grupo de control de isotipo. Se utilizó una prueba T de Student de dos colas no apareada para comparar el grupo de tratamiento con el grupo de control de isotipo con una significación reportada de <0.05.

Análisis de inmunohistoquímica (IHC): Se prepararon secciones de tejido tumoral

5 incrustadas en parafina fijadas con formalina (FFPE) de 4 mm de grosor para la expresión de CD8, CD45 y granzima B mediante protocolos personalizados y tinción IHC automática Leica Bond-max. Las imágenes se adquirieron en un escáner digital de portaobjetos completo Leica / Aperio AT2 utilizando el ajuste de aumento de 20X. Las imágenes se analizaron utilizando algoritmos personalizados creados en el software
10 Visiopharm 7.2 y se optimizaron para cada objetivo de interés. El recuento de células se llevó a cabo en el tejido viable y se normalizó por el área de tejido viable. La densidad celular se calculó utilizando la siguiente ecuación: $\text{Células}/\mu\text{m}^2 = (\# \text{células positivas}/\text{área de tumor viable } (\mu\text{m}^2)) * 10^6$.

15 *Resultados*

El anticuerpo anti- $\alpha\text{v}\beta 8$ (ADWA11) en combinación con la radioterapia redujo significativamente el crecimiento tumoral y mejoró la supervivencia con respecto a la radioterapia sola (FIG. 14A).

En los estudios CT26, la monoterapia con anticuerpo ADWA11 (anti-ITG $\alpha\text{V}\beta 8$)
20 dio como resultado un TGI del 64.3% en el día 19 del estudio, pero la respuesta fue transitoria y solo 1 de cada 10 ratones alcanzó el final del estudio (10% de supervivencia, día 57). La radioterapia sola (dosis de 5 Gray (Gy) el día 5) dio como resultado una inhibición del crecimiento tumoral del 57.7% (día 18), y 1 de cada 20 ratones alcanzó el final del estudio (5% de supervivencia, día 57). En comparación, el
25 tratamiento con ADWA11 en combinación con la radioterapia resultó en una inhibición del crecimiento tumoral del 87.7% (día 19, grupo de dosis de radioterapia de 10 mg/kg de ADWA11 y 5 Gy) y 9 de 19 ratones alcanzaron el final del estudio (47.4% de supervivencia, Día 57).

Para investigar el efecto de ADWA11 sobre la abundancia de linfocitos tumorales
30 en el modelo de tumor CT26, se recolectó tejido tumoral en el día 12 (tratamiento con anticuerpos en los días 0, 4, 8) de ratones tratados con control de isotipo o ADWA11 VH05-2/VK01 (anti-ITG $\alpha\text{V}\beta 8$) y se analizó en busca de marcadores de linfocitos mediante IHC (FIG. 14B, panel superior). El tratamiento con ADWA11 VH05-2/VK01 aumentó la densidad de leucocitos CD45+ totales; Isotipo: 367 ± 128 , ADWA11 VH05-

2/VK01: $695 \pm 94,8$ (número medio de células por $\text{mm}^2 \pm$ desviación estándar). Linfocito T CD8 +; Isotipo: $173 \pm 79,3$, ADWA11 VH05-2/VK01: $374 \pm 80,4$ (número medio de células por $\text{mm}^2 \pm$ desviación estándar). Granzima B que expresa células citotóxicas, Isotipo: $264 \pm 65,5$, ADWA11 VH05-2/VK01: $514 \pm 91,7$ (número medio de células por $\text{mm}^2 \pm$ desviación estándar) en el microambiente tumoral. Además, el tratamiento anti-ADWA11 en combinación con radioterapia aumentó el nivel de expresión de ARNm de CD45 ($3,86 \pm 0,979$), CD8a ($5,45 \pm 3,53$), granzima B ($4,21 \pm 1,02$) e IFN γ ($5,53 \pm 2,13$) en el microambiente tumoral (cambio de plegado $\pm$ desviación estándar frente al grupo de tratamiento con isotipo) (FIG. 14B, panel inferior).

Estos estudios demuestran que el tratamiento con anti-ITG α V β 8 (ADWA11_mIgG1_4mut) aumenta la abundancia de linfocitos activados en el microambiente tumoral y, en combinación con la radiación dirigida al tumor, es eficaz para provocar la regresión tumoral y la supervivencia a largo plazo.

Estos resultados también demuestran por primera vez que los anticuerpos ADWA11, incluido ADWA11 2.4, proporcionan un efecto terapéutico sinérgico cuando se combinan con radioterapia. Estos datos sugieren que ADWA11 2.4 es un potencial agente terapéutico humano que puede proporcionar una respuesta terapéutica antitumoral sinérgica cuando se combina con radioterapia.

Ejemplo 14: Evaluación de la integrina α V β 8 como un supresor nuevo de la inmunidad tumoral y objetivo de la inmunoterapia tumoral

En este estudio, se usó un potente anticuerpo monoclonal bloqueador de α V β 8 (ADWA-11) que se generó al inmunizar ratones knockout para *Itgb8* con α V β 8 recombinante, para examinar si la inhibición de esta integrina podría facilitar la inmunidad antitumoral.

En tejidos no neoplásicos, la integrina α V β 8 se expresa en neuroepitelios, fibroblastos, células dendríticas y células T, y puede activar el factor de crecimiento transformante latente β (TGF β), un importante inmunomodulador. Como se muestra ahora en el presente documento, dentro de los carcinomas, las células mieloides expresan la integrina α V β 8 y un potente anticuerpo monoclonal que bloquea α V β 8 (ADWA-11) causa supresión del crecimiento o regresión tumoral completa en modelos singénicos de carcinoma de células escamosas, cáncer de mama y colon, especialmente cuando se combina con otros inmunomoduladores (anti-PD1, anti-CTLA-4 o 4-1BB) o radioterapia. El tratamiento con ADWA-11 aumenta la infiltración tumoral

y la expresión de granzima B de las células T CD8 + y mejora la proporción de macrófagos asociados a tumores proinflamatorios y supresores. La mayoría de los tumores humanos expresan ARNm de ITGB8 y, como se muestra en el presente documento, existen altos niveles de expresión de $\alpha\beta 8$ de superficie en monocitos, macrófagos y subconjuntos de células dendríticas en biopsias de carcinomas de células renales y de ovario humanos. Estos hallazgos identifican a la integrina $\alpha\beta 8$ como un objetivo nuevo prometedor para la inmunoterapia contra el cáncer.

Inmunoterapia de combinación sinérgica eficaz con ADWA-11 y anti-PD-1 en un modelo de carcinoma de células escamosas

Los efectos de ADWA11 solo, o en combinación con un anticuerpo anti-PD-1, se examinaron en un modelo tumoral singénico de carcinoma de células escamosas establecido (células CCK168) (FIG. 16A y FIG. 28). Se inyectaron células CCK168, una línea celular de carcinoma de células escamosas inducida químicamente derivada de ratones FVB, por vía subcutánea en el flanco derecho dorsolateral de los ratones FVB singénicos de tipo silvestre con una dosis de 1.5×10^4 células/ratón.

Se dejó que los tumores crecieran durante 14 días. Los ratones seleccionados para el experimento tenían un tamaño tumoral de al menos 5 mm de diámetro y se distribuyeron de manera óptima en función del tamaño de los tumores, entre los diferentes grupos de tratamiento utilizando el software de registro de estudios. Se pesaron los ratones y se midió el tamaño tumoral cada dos días durante la duración del estudio utilizando un calibre digital rastreado (Fisher Scientific, modelo nº 14-648-17). Los ratones se sacrificaron cuando el tamaño tumoral alcanzó o excedió los 2000 mm³ o desarrollaron una gran ulceración en el sitio del tumor.

Los ratones se trataron con anticuerpo de hibridoma ADWA11 o anticuerpos de control de isotipo coincidente los días 0 y 7 y con anticuerpo anti-PD-1 de ratón (RMP1-14, BioXcell) o su anticuerpo de control de isotipo coincidente los días 0, 4 y 8 (el día 0 es el primer día de terapia). Se inyectaron intraperitonealmente anticuerpos apropiados para cada grupo y anticuerpos de control de isotipo a dosis de 10 mg/kg para cada anticuerpo, ADWA11, anticuerpo anti-PD-1 (RMP1-14, BioXcell), anticuerpo de control ADWA-21 (para ADWA11) y 2A3 (BioXcell). El control ADWA-21 se une a la integrina $\beta 8$ humana pero no a la de ratón.

Los tumores CCK168 demostraron respuestas mínimas a un anticuerpo anti-PD1, pero cinco de diez ratones tratados con monoterapia con ADWA11 mostraron

regresión tumoral (FIG. 16B-16C). La terapia de combinación con ADWA11 y un anticuerpo anti-PD1 indujo la regresión completa de ocho de diez tumores, y un aumento significativo en la supervivencia general cuando los ratones fueron tratados con hibridoma ADWA11 y un anticuerpo anti-PD1 (FIG. 16B) o ADWA11_4mut_mIgG1 y anticuerpo anti-PD1 (FIG. 28).

Los ratones supervivientes se observaron hasta dos años después de la regresión tumoral y ninguno mostró evidencia de un recrecimiento posterior del tumor. Trece ratones de dos experimentos replicados con regresión completa después de la terapia de combinación y 3 ratones con regresión completa después de la monoterapia con ADWA11 se expusieron nuevamente una o dos veces con células CCK168 y no hubo crecimiento tumoral en ninguno, lo que demuestra el desarrollo de una inmunidad tumoral a largo plazo.

Estos resultados demuestran por primera vez que los anticuerpos ADWA11, incluido ADWA11 2.4, proporcionan un efecto terapéutico sinérgico cuando se combinan con un inhibidor de PD-1, ej., un anticuerpo anti-PD-1. Estos datos sugieren que ADWA11 2.4 es un potencial terapéutico humano que puede proporcionar una respuesta terapéutica antitumoral sinérgica cuando se combina con un inhibidor de PD-1.

La integrina $\alpha\beta8$ de superficie está presente en las células mieloides dentro del microambiente tumoral.

Se utilizó la citometría de flujo para identificar qué tipos de células del tumor expresan la integrina $\beta8$, que se presume se expresa como un heterodímero $\alpha\beta8$ (FIG. 17A y FIG. 17B). La expresión de $\alpha\beta8$ fue fácilmente detectable en más del 80% de los macrófagos CD45+CD11b+F4/80+CD64+ y en menos del 20% de las células dendríticas CD45+CD11b+F4/80-CD64-CD11c+MHCII^{high} dentro de los tumores CCK168 (Fig. 17B). La $\alpha\beta8$ se expresó a niveles similares en cada una de las subpoblaciones de macrófagos examinadas, incluidas las células Ly6C+ infiltrantes posteriores (proinflamatorias) y las células CD206+ inmunosupresoras (FIG. 17B). La $\alpha\beta8$ también se expresó en células tumorales CCK168 *in vitro* (FIG. 18B). También se encontraron bajos niveles de expresión de $\alpha\beta8$ en células tumorales y estromales CD45- *in vivo* (FIG. 18A). No se encontró expresión de $\alpha\beta8$ en las células T intratumorales (FIG. 20).

Animales

Todos los estudios en animales se realizaron de acuerdo con los protocolos aprobados por la Universidad de California, San Francisco, el Comité Institucional de Uso y Cuidado de Animales de Pfizer, Inc. El Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales. Los ratones FVB/N de tipo silvestre utilizados se adquirieron de Jackson Laboratories (The Jackson Laboratories, lote # 001800) o se obtuvieron de nuestra propia colonia reproductora derivada de este lote. Se adquirieron ratones Balb/c de tipo silvestre de Charles River Laboratories (Charles River Laboratories, cepa código 028).

10 *Procesamiento de tumores humanos*

Para todas las muestras humanas, se obtuvo el consentimiento informado de todos los sujetos y el trabajo se realizó de acuerdo con la aprobación de la Junta de Revisión Institucional (IRB). Se recolectó y procesó tejido fresco a través del flujo de trabajo de UCSF Immunoprofiler, una plataforma de traducción desarrollada y optimizada para perfilar subconjuntos inmunes dentro del cáncer. Brevemente, se adquirió tejido de la sala de operaciones y se transportó al laboratorio dentro de las 4 horas posteriores a la escisión. El tejido se trituró vigorosamente (trozos <1 mm) y se digirió enzimáticamente (3 mg/ml de collagenasa A, 50 U/ml de DNasa I) con base en procedimientos operativos estándar desarrollados. Las poblaciones inmunes se sometieron a citometría de flujo multiplexada (> 60 colores) para analizar la proporcionalidad y las intensidades fluorescentes medias de subconjuntos conocidos y su expresión de $\alpha\nu\beta 8$. Todos los anticuerpos se adquirieron de BD Pharmingen, eBioscience, Invitrogen o BioLegend. El anticuerpo anti- $\alpha\nu\beta 8$ se generó como se describió anteriormente. Toda la citometría de flujo, incluida la clasificación de células, se realizó en un citómetro de flujo BD FACSAria Fusion de pedido especial. El análisis de los datos de citometría de flujo se realizó utilizando FlowJo.

Protocolo de citometría de flujo

Los tumores subcutáneos se aislaron de los ratones usando tijeras y disección roma. Los tumores se colocaron en una placa de petri con cóctel de digestión de Colagenasa XI (Sigma C9407) 2 mg/mL, Hialuronidasa (Sigma H3506) 0.5 mg/ML y DNasa (Sigma DN25) 0.1 mg/mL preparada en medio C10 (RPMI 1640, Hepes 1%, Penicilina/Estreptomina 1X, suero fetal bovino 10%, piruvato de sodio 1 mM, aminoácidos no esenciales 1X y beta-mercaptoetanol 0.45%). Los tumores se

trituraron utilizando tijeras estériles. La suspensión de células resultante se transfirió a tubos cónicos de 50 ml (Fisher Scientific nº 14-432-22) y la placa de Petri utilizada para picar el tumor se enjuagó con 2 ml de medio C10 para capturar las células restantes. Las células se incubaron en un agitador a 255 rpm durante 45 minutos a 37 °C.

- 5 Después de la incubación, se agregó 15 ml de medio C10 a las células tumorales digeridas y se agitaron suavemente durante 15 segundos. La suspensión de células se pasó a través de un colador de malla de 100 µm (Falcon® # 352360) a un tubo cónico limpio de 50 ml. Las células se sedimentaron mediante la centrifugación durante 5 minutos a 200 g a 4 °C y se reconstituyeron en PBS. Los recuentos de las células se
10 realizaron utilizando un hemocitómetro Countless II FL (Life Technologies).

- Se utilizaron preparaciones de células individuales aisladas para la tinción intracelular y de la superficie celular. Después del recuento, se transfirieron 10×10^6 células a cada pocillo de una placa de 96 pocillos en forma de V para la tinción. Tinción viva muerta con Ghost Dye™ Violet 510 (TONBO bioscience#13-0870) a 1:1000
15 durante 20 minutos a 4 °C. El receptor Fc y la unión no específica se bloqueó con anti-CD16/30 (eBioscience nº 14061) durante 10 minutos a 4° C. La tinción de la superficie se realizó durante 20 minutos a 4 °C. Para la tinción intracelular, las células se incubaron en tampón Fix/Perm (eBioscience nº 88-8824) durante 20 minutos a temperatura ambiente seguido de tinción de citocinas intracelulares con cócteles de
20 anticuerpos durante 20 minutos a 4 °C. Una vez completada la tinción, las células se transfirieron a tampón de citometría de flujo (PBS con FBS al 2%, penicilina/estreptomicina/glutamato, EDTA 2 mM) para su análisis.

- Anticuerpos utilizados para experimentos de tinción de células T: ICOS FITC (eBioscience#11-9949-80), CD25 AF780 (eBioscience#47-0251-82), CD45.1 AF700
25 (BioLegend#110723), CD8 BV605 (BioLegend#100743), CD4 BV650 (BioLegend#100546), Ki-67 PE-Cy7 (BD Biosciences#561283), CTLA4 PE (BD Biosciences#553720), y FoxP3 PB-e450 (eBiosciences#48-5773-82).

- Anticuerpos utilizados para experimentos de tinción de citocinas intracelulares: CD3 APC (eBioscience#17-0032-82), NK1.1 APC-AF780 (eBioscience#47-5941-80),
30 CD45.1 AF700 (BioLegend#110723), CD4 BV650 (BioLegend#104729), CD8 BV605 (BioLegend#100546), IFN-γ FITC (eBioscience#11-7311-82), IL-17A PE-Cy7 (BioLegend#506921), granzima-B PE (eBioscience#12-8898-82), FasL PerCP-eFluor710 (eBioscience#46-5911-82), y FoxP3 PB-e450 (eBioscience#48-5773-82).

Anticuerpos utilizados para experimentos de tinción de células mieloides: Ly6G BV785 (BioLegend#127645), SiglecF BV785 (BD Biosciences#740956), CD90.2 BV785 (BioLegend#10533), B220 BV785 (BioLegend#103246), CD45.1 AF700 (BioLegend#110724), CD11b AF780 (eBioscience#47-0112-82), CD206 PerCP-Cy5.5 (BioLegend#141716), F4/80 PE (BioLegend#123109), CD11c BV650 (BioLegend#117339), Ly6C BV605 (BioLegend#128035), MHC-II PB-e450 (eBioscience#48-5321), CD24 PE-Cy7 (BioLegend#101822), CD103 FITC (eBioscience#11-1031-82), ADWA11 APC (conjugado personalizado en nuestro laboratorio) y CD64 FITC (BioLegend#139316).

Anticuerpos utilizados para experimentos de tinción de células NK: CD45.1 AF700 (BioLegend#110724), CD3 APC (eBioscience#17-0032-82), NK1.1 APC-AF780 (eBioscience#47-5941-80), CD314-NKG2D PE (eBioscience#12-5882-82), CD226-DNAM-1 PerCP-Cy5.5 (BioLegend#128814), CD335-NKp46 FITC (eBioscience#11-3351-82), CD107a-LAMP-1 PE-Cy7 (BioLegend#121620), y CD49b eFluor450 (eBioscience#48-5971-82).

Para la estimulación celular, las células se estimularon antes de la tinción intracelular y de la superficie celular. Aproximadamente 3×10^6 células en 200 μ l de medio C10 por pocillo se incubaron en placas de 96 pocillos de fondo redondo durante la noche en una incubadora de cultivo de tejidos en 5% de CO₂ a 37 °C. Se agregó un cóctel de estimulación (Inomocina, PMA, Brefeldin-A y cóctel de estimulación Monensin 500x Tombo #TNB4975-UL100) a las células que se incubaron en una incubadora de cultivo de tejidos en CO₂ al 5% a 37 °C durante 4 horas. Las células se transfirieron a pocillos con fondo en V para la tinción como se describe anteriormente. La citometría de flujo se realizó usando un BD LSRFortessa™ (BD Biosciences) y se analizó usando FlowJo™ (Tree Star Inc.).

ADWA11 aumenta la infiltración tumoral y mejora la diferenciación de las células T CD8 + citotóxicas y eleva la proporción de monocitos inflamatorios a macrófagos supresores

También se caracterizaron los efectos de ADWA11 (con o sin anti-PD1) sobre la naturaleza del infiltrado inmune (Thomas, Cancer Cell 8: 369-380, 2005; Wu, Cancer Immunol. Res. 2:487-500, 2014). Aunque el tratamiento con anti-PD1 en este modelo no tuvo efecto sobre el número total de células T CD8+ tumorales, el tratamiento con ADWA11 aumentó drásticamente la infiltración de células T CD8, un efecto que fue más

evidente por inmunotinción de tumores extirpados (FIGs. 19A-19B). ADWA11 también aumentó significativamente el porcentaje de células T CD8⁺ que expresaban granzima B (FIG. 19C), mientras que el tratamiento con anti-PD1 no tuvo efecto. Los monocitos inflamatorios también contribuyen a la evasión tumoral de las respuestas inmunitarias del huésped. Ly6C se expresa en monocitos inflamatorios y la expresión de Ly6C está disminuida en macrófagos asociados a tumores con propiedades supresoras en el microambiente tumoral (Franklin, Science 344: 921-925, 2014; Movahedi, Cancer Res. 70:5728-5739). Una clasificación adicional de la población mieloide mostró que el tratamiento con ADWA11 aumentó específicamente la acumulación de los macrófagos inflamatorios CD45+CD11b+CD11c-Ly6G-Ly6C^{high}CD206^{low} (FIG. 19D) (Ostuni, Trends Immunol. 36:229-239, 2015; Noy, Immunity 41:49-61, 2014). Ninguno de los tratamientos tuvo efectos significativos sobre el número de células T CD4⁺, células T reguladoras CD4⁺FoxP3⁺ o la expresión de interferón- γ por subconjuntos de células T, en los puntos de tiempo analizados, y no se pudo identificar una expresión significativa de IL-17 en ningún subconjunto de células T (datos no mostrados).

Para la inmunotinción, se recolectaron tumores y se fijaron en paraformaldehído al 4% a 4 °C durante la noche. Los tumores fijados se sumergieron en una solución de sacarosa al 30% a 4 °C durante la noche y se embebieron en compuesto O.C.T. (Tissue Tek ®# 4583), y se criosectionaron a 15 μ m. Las secciones congeladas se tiñeron mediante protocolos descritos previamente (Henderson, Nat. Med. 19:1617-1624, 2013; Rock, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 108:E1475-1483, 2011). En resumen, las criosectiones se permeabilizaron y bloquearon con Triton X-100 al 0.3% y BSA al 3% en PBS. Las secciones se incubaron con anticuerpos primarios durante la noche a temperatura ambiente, luego con anticuerpos primarios y secundarios conjugados con fluoróforo y luego se montaron con Prolong Gold (Invitrogen).

Anticuerpos utilizados para la inmunotinción: anti-F4/80 de rata (conjugado con Alexa Fluor 647, Serotec, clon C1, 1:100), anti-fosfo-Smad3 de conejo (Epitomics, 1880-1; 1:100), anti-CD8 de rata (conjugado con Alexa Fluor 488 o 594, Biolegend, clon 53-6.7, 1:100). conjugado con Alexa Fluor 488, 555, 647 de burro anti-conejo y anti-rata (Invitrogen). La microscopía confocal se realizó en microscopios Zeiss LSM780 y LSM5 Pascal.

Todas las cuantificaciones se realizaron utilizando imágenes confocales de alta resolución que representan una sección óptica delgada (1 unidad aireada; $\sim$ 1 μ m) de la muestra. Las imágenes se analizaron utilizando el software ImageJ. Cada grupo

5 contenía muestras de al menos 5 controles y 5 ratones tratados (ADWA11). Se tomaron aleatoriamente cuatro imágenes (campos de tamaño 425.10 x 425.10 μm) de cada sección de tejido, utilizando la misma configuración confocal. Las imágenes se colocaron en umbrales idénticos, luego se calculó el área cubierta por tinciones de miofibroblastos o fosfo-Smad3.

Los efectos sinérgicos beneficiosos de la terapia combinada ADWA11 y anti-PD1 fueron anulados por el agotamiento de las células T CD8+

10 Dado que los efectos más dramáticos de la terapia ADWA11 se observaron en las células T CD8+, en la presente se buscó determinar si estas células impulsaban los efectos antitumorales de ADWA11. Los ratones portadores de tumores CCK168 se redujeron en células T citotóxicas usando un anticuerpo anti-CD-8a (Bio X Cell® BE0004-1 Clon 53-6.72) o un anticuerpo de control a una dosis de 10 mg/kg se inyectó intraperitonealmente 24 horas antes de cada administración de fármacos terapéuticos, 15 comenzando el día 0. Se inyectaron ADWA11 (10 mg/kg) y anti-PD1 (10 mg/kg) combinados los días 1, 5 y 9. La inmunotinción de acuerdo con los métodos descritos en este documento mostró una disminución efectiva de CD8 (FIG. 21A), que anuló completamente los efectos beneficiosos (ej., supervivencia y regresión tumoral) de la terapia de combinación con ADWA11 y anti-PD1 (FIGS. 21B-21C).

20 Estos datos sugieren que las células T CD8+ son importantes en los efectos antitumorales mediados por anti-avb8, ej., ADWA11.

pSmad3, un marcador de señalización activa de TGF β , está presente en las células tumorales CCK168 y en las células del microambiente tumoral, y la señalización se inhibe ampliamente mediante el tratamiento con ADWA11

25 Debido a que la función *in vivo* mejor caracterizada de la integrina $\alpha\beta 8$ es la activación local de TGF β latente, se buscó determinar cuáles células en tumores no tratados mostraban indicios de señalización de TGF β y si esta señalización sería inhibida o suprimida por la terapia ADWA11. Para identificar los tipos de células dentro de los tumores CCK168 que emiten señales activamente de los receptores de TGF β , se 30 utilizó la inmunotinción con un anticuerpo para SMAD3 fosforilado, un paso próximo en la señalización de TGF β , como indicio de que las células (células T CD8 +, macrófagos F4/80 y células dendríticas CD11c) respondían al TGF β activo. Los tumores CCK168 examinados tenían una red rica de macrófagos (FIG. 22A) en todos los tumores y solo

un pequeño número de DC intercaladas. pSMAD3 se detectó fácilmente dentro de los tumores, normalmente en células adyacentes a macrófagos F4/80+, pero no se detectó en los propios macrófagos. Las células T CD8+ eran escasas en los ratones no tratados y eran sustancialmente más abundantes en los tumores de los ratones tratados con AWDA-11. No se observó tinción con pSMAD3 en estas células. En tumores no tratados, se observaron altos niveles de pSMAD3 en todo el microambiente tumoral; sin embargo, la tinción con pSMAD3 fue ampliamente inhibida por el tratamiento con ADWA11 (FIG. 22A. Por lo tanto, sin desear estar ligado a una teoría en particular, estos datos indican que en algunas modalidades, la actividad de $\alpha\beta 8$ es esencial para la activación de TGF β en estos tumores, pero los efectos de TGF β , cuando se activa por $\alpha\beta 8$, sobre la acumulación de células T CD8+, la expresión de la granzima B y la distribución del subconjunto de macrófagos son indirectos o ocurren fuera del microambiente tumoral.

ADWA11 no efector inhibe el crecimiento tumoral, mejora la supervivencia general e induce una inmunidad antitumoral persistente en el modelo de carcinoma de células escamosas CCK168 y en carcinomas CT-26

Los estudios iniciales se realizaron utilizando un anticuerpo murino nativo que podría interactuar con los receptores Fc. Por tanto, era posible que los efectos antitumorales de ADWA11 pudieran deberse a la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) de células tumorales o macrófagos infiltrantes de tumores o células dendríticas. Para determinar el efecto de ADCC sobre la actividad de ADWA11, se generó una versión recombinante Fc "no efectora" de ADWA11, denominada ADWA11_4mut, introduciendo 4 sustituciones en el dominio Fc de IgG1 del anticuerpo de ratón para anular la función efectora. Anteriormente se había demostrado que estas sustituciones anulaban completamente la unión del anticuerpo a los receptores Fc (Alegre, J. Immunol. 148: 3461-3468, 1992; Hezareh, J. Virol. 75: 12161-12168, 2001). El ADWA11_4mut fue tan eficaz como el anticuerpo de tipo silvestre en el modelo CCK168 (FIG. 28). Adicionalmente, se probó la eficacia del anticuerpo ADWA11_4mut en dos modelos de tumores singénicos (es decir, los modelos de tumores CT26 y EMT6).

Se eligieron células CT-26, además de CCK168, ya que las primeras carecen por completo de expresión detectable de $\alpha\beta 8$ (FIG. 18B). Se inyectaron células de carcinoma de colon de ratón CT-26 (ATCC ®CRL-2638™) a una dosis de 4×10^5

células/ratón en el flanco subcutáneo de ratones Balb/c hembra (Charles River Labs).

Se permitió que los tumores crecieran hasta un tamaño de 50-100 mm³ para su inclusión en el estudio. Para estos estudios, se inyectaron ADWA11_4mut o el control de isotipo 2B8_mIgG_4mut los días 0, 4, 8, 12, el anticuerpo anti-PD1 (RMP1-14,

BioXcell) o el control de isotipo 2A3_rat IgG (BioXcell) se inyectaron por vía intravenosa los días 0, 4, 8. Todos los anticuerpos se dosificaron a 10 mg/kg. En el día 5, todos los ratones, excepto el grupo de control sin tratamiento con radiación, se expusieron a una dosis de radiación de 5 Gy dirigida al tumor. El crecimiento tumoral se midió dos veces por semana con calibradores digitales y se reportó como volumen (largo x ancho x ancho x 0.5). Para el experimento de nueva exposición, en el día 51 (después del primer tratamiento con anticuerpos) se implantaron ratones con una respuesta completa y ratones vírgenes en el flanco contralateral con 2.5×10^5 células CT26 en PBS y se controló el crecimiento del tumor como se describió anteriormente.

En ambos modelos, el ADWA11_mut4 fue eficaz para impulsar una respuesta antitumoral (FIG. 28), lo que demuestra que la función de ADCC no era necesaria para el efecto antitumoral mediado por ADWA11.

ADWA11 es eficaz en múltiples modelos de carcinoma y mejora los efectos de la radioterapia y la terapia anti-PD-1, anti-CTLA-4 y 4-1BB

Se determinó la eficacia de ADWA11 en otros modelos de tumores sólidos y si ADWA11 podría mejorar más ampliamente los efectos beneficiosos de las terapias inmunomoduladoras adicionales. También se examinó la capacidad de ADWA11 para mejorar los efectos de la radioterapia en carcinomas CT-26, debido a que anteriormente se había demostrado que este tumor era radiosensible, no expresa $\alpha\beta 8$ *in vitro* ni *in vivo*, y se ha demostrado que responde a un inhibidor de molécula pequeña del receptor de TGFB (Young, PloS One 11: e0157164, 2016). Usando dosis de radiación que solo fueron mínimamente efectivas como terapia, la adición de ADWA11_4mut o anti-PD-1 aumentó significativamente la regresión tumoral y la supervivencia general de los ratones, con 5/9 y 3/10 respondedores completos, respectivamente (FIGs. 29A y 29B). Curiosamente, la adición de anti-PD1 a ADWA11 agregó pocos beneficios adicionales en este modelo, proporcionando más indicios de que la inhibición de $\alpha\beta 8$ puede ser efectiva incluso en ausencia de inhibidores de puntos de control. Los ratones supervivientes que mostraron una regresión completa de los tumores primarios y que recibieron bien sea monoterapia o terapia de combinación se expusieron

nuevamente en el lado contralateral con las mismas células tumorales CT-26 al menos 51 días después de la terapia inicial. Se observó un crecimiento tumoral mínimo con los tumores contralaterales en pocos ratones. Los pequeños tumores que inicialmente crecieron todos posteriormente mostraron regresión completa, lo que indica que en algunas modalidades, el tratamiento exitoso con ADWA11 puede conducir a una inmunidad antitumoral a largo plazo, como se ha descrito previamente para otros inmunomoduladores (Ascierto, J. Transl. Med. 15:205, 2017) (FIG. 29C). Ninguno de los tumores primarios que tuvieron regresión mostró un nuevo crecimiento.

10 ***ADWA11_4mut es eficaz en el modelo de carcinoma de mama EMT6 y mejora los efectos de anti-CTLA-4 y anti-4-1BB.***

El modelo EMT-6 de carcinoma de mama con un microambiente tumoral excluido inmunológicamente y niveles bajos de expresión de $\alpha\beta 8$ se utilizó para examinar los efectos de anti-PD-1, anti-CTLA-4 (que recientemente se ha demostrado que funciona a través de un mecanismo molecular diferente a anti-PD1 (Wei, Cell 170: 1120-1133, 2017), o un agonista de 4-1BB, un receptor coestimulador expresado en células T CD8 + (Kang, Cancer Res. 2017) en combinación con ADWA11_4mut.

También se probó ADWA11_4mut en el modelo tumoral EMT-6. Se inyectaron 1×10^6 células EMT6 (línea celular de carcinoma mamario epitelial de ratón; ATCC®, CRL2755™) en la cuarta almohadilla de grasa mamaria de ratones Balb/c hembra (Charles River Labs). Se permitió que los tumores crecieran hasta un tamaño de 50-100 mm³. Los ratones se asignaron al azar a grupos de tratamiento con anticuerpos y los operadores desconocían los grupos de tratamiento. Se inyectó 10 mg/kg de ADWA11_4mut o 10 mg/kg de control 2B8_mIgG4mut, 10 mg/kg de anti-CTLA4 (9D9 BioXcell) o control de isotipo E.tenella-mIgG2b en los días 0, 4 y 8, y se inyectó 1 mg/kg de anti-4-1BB (MAB9371, R&D systems) los días 0 y 4 por vía intravenosa. El crecimiento tumoral se midió dos veces por semana con calibradores digitales y se reportó como volumen (largo x ancho x ancho x 0.5).

La monoterapia anti-PD1, anti-CTLA4 o anti-41-BB mostró una regresión tumoral inicial significativa, sin embargo, solamente un ratón tratado con anti-4-1BB y uno tratado con anti-PD1 tuvieron una regresión completa (FIG. 30A-D). Por el contrario, aproximadamente el 70% de los ratones tratados con ADWA11 en combinación con bien sea anti-PD-1, anti-CTLA4 o anti-4-1BB tuvieron regresión completa, supervivencia a largo plazo y resistencia a la nueva exposición a células tumorales EMT6, lo que

sugiere una inmunidad tumoral a largo plazo (FIG. 30E). Para el experimento de nueva exposición, en el día 51 (después del primer tratamiento con anticuerpos) se implantaron ratones con una respuesta completa y ratones vírgenes en la almohadilla de grasa contralateral con 1×10^6 células EMT-6 y se controló el crecimiento del tumor como se describió anteriormente.

Estos datos demuestran por primera vez que los anticuerpos ADWA11, incluido ADWA11 2.4, proporcionan un efecto terapéutico sinérgico cuando se combinan con un inhibidor de PD-1 o CTLA4 (ej., un anticuerpo antagonista que se une a PD-1 o CTLA-4 y por lo tanto inhibe el efecto de PD-1 o CTLA-4, respectivamente) y/o un agonista de 4-1BB (ej., un anticuerpo agonista que aumenta la actividad biológica de 4-1BB). Estos datos sugieren que ADWA11 2.4 es un potencial agente terapéutico humano que puede proporcionar una respuesta terapéutica antitumoral sinérgica cuando se combina con un inhibidor de, ej., PD-1 o CTLA4, o un agonista de, ej., 4-1BB.

Expresión y tinción del gen de integrina $\alpha\beta 8$ en tumores humanos

El interrogatorio del atlas del genoma del cáncer (TCGA) para la expresión de ARNm de ITGB8 reveló que casi todos los tumores humanos, de los treinta tipos de tumores examinados, expresan niveles robustos detectables de ARNm de ITGB8, con los niveles más altos de expresión detectados en carcinomas de células renales y de ovario (FIG. 23A). La expresión de ITGB8 en lisados tumorales completos podría reflejar la expresión de $\alpha\beta 8$ en células inmunes infiltrantes. Para probar esto, se realizó una citometría de flujo de múltiples paneles para evaluar la expresión de la proteína $\alpha\beta 8$ en células individuales en muestras de resecciones y biopsias de tumores humanos recién recolectadas y desagregadas. El análisis de dos carcinomas de ovario humanos y dos carcinomas de células renales mostró una $\alpha\beta 8$ sustancial expresada en monocitos CD16 +, macrófagos asociados a tumores CD14 + y células dendríticas derivadas de monocitos BCDA1+ y BCDA3+ (FIG. 23B).

Discusión

Como apreciará un experto en la técnica, ADWA11 es un anticuerpo monoclonal específico que bloquea la integrina $\alpha\beta 8$ y es una inmunoterapia antitumoral eficaz cuando se usa solo. Por ejemplo, ADWA11 demostró actividad antitumoral en un carcinoma cutáneo de células escamosas CCK168. Además, o alternativamente, ADWA11 en combinación con un inmunomodulador (ej., anti-PD-1, anti-CTLA-4 y anti-

4-1BB) o con radioterapia demostró una actividad antitumoral potente y sinérgica mejorada en tres modelos de aloinjerto singénico de carcinomas epiteliales en tres diferentes antecedentes de cepas de ratón. En algunas modalidades, la inhibición de $\alpha\beta 8$ aumentó el número de células T CD8+ en tumores y su diferenciación citotóxica, según se evaluó mediante la expresión de granzima B en estas células. La disminución de las células T CD8+ anuló los efectos antitumorales del tratamiento con ADWA11 y anti-PD1, lo que indica que en algunas modalidades, la muerte de células tumorales mejorada por células T CD8 es crítica para la eficacia de ADWA11. Además de los efectos sobre las células T CD8+, ADWA11 aumentó el número de monocitos inmunoestimuladores en el microambiente tumoral (Franklin, Science 344: 921-925, 2014; Movahedi, Cancer Res. 70:5728-5739, 2010; Ostuni, Trends Immunol. 36: 229-239, 2015; Noy, Immunity 41:49-61, 2014). Aunque no hubo diferencia en el número de macrófagos inmunosupresores, estos macrófagos, junto con las células dendríticas, expresaron altos niveles de $\alpha\beta 8$ detectable. Aunque la primera línea tumoral probada, células CCK168, expresó niveles de superficie significativos de $\alpha\beta 8$ *in vitro*, se encontró poca expresión de $\alpha\beta 8$ mediante citometría de flujo en células no hematopoyéticas de tumores recolectados, lo que indica que en algunas modalidades, la expresión se pierde cuando estas células malignas forman tumores *in vivo*. No obstante, se excluyó la posibilidad de que los efectos antitumorales de ADWA11 se debieran al direccionamiento de la célula maligna directamente a través de ADCC, al replicar los hallazgos utilizando un anticuerpo ADWA11 recombinante no efector en células que no expresan ningún $\alpha\beta 8$ detectable (es decir, células CT-26 de carcinoma de colon). El anticuerpo no efector pudo suprimir el crecimiento tumoral en tres modelos tumorales, CCK168, CT-26 y EMT-6, de los cuales CT-26 tiene una expresión indetectable de $\alpha\beta 8$. Además, la terapia a corto plazo con ADWA11 condujo a la supresión tumoral a largo plazo y a la resistencia a una nueva exposición posterior, lo que indica, en algunas modalidades, la inducción de inmunidad antitumoral a largo plazo. Juntos, estos datos indican que, en algunas modalidades, el bloqueo de la integrina $\alpha\beta 8$ provoca la supresión tumoral al bloquear $\alpha\beta 8$ en células inmunitarias innatas o células T reguladoras para potenciar la inmunidad adaptativa a los tumores.

La activación de TGF β por $\alpha\beta 8$ expresada en células dendríticas, células T reguladoras, fibroblastos, células epiteliales de las vías respiratorias y neuroepitelio, se ha demostrado previamente (Travis, Nature 449: 361-365, 2007; Melton, J. Clin. Invest. 120:4436-4444, 2010; Arnold, J. Neurosci. 32(4):1197–1206, 2012; Fenton, Mucosal

Immunol. 10:624-634, 2017; Mu, J. Cell Biol. 157:493-507, 2002; Proctor, J. Neurosci. 25:9940-9948, 2005; Edwards, J. Immunol. 193: 2843-2849, 2014), pero la definición del intervalo completo de expresión de la integrina $\alpha\beta8$ se ha visto limitado por la ausencia de reactivos fiables para la tinción de tejidos. En los Ejemplos expuestos en el presente documento, se usaron anticuerpos recientemente desarrollados capaces de detectar la integrina $\alpha\beta8$ mediante citometría de flujo para demostrar que los macrófagos asociados a tumores y las células dendríticas son los principales tipos de células que muestran una alta tinción de la superficie celular para $\alpha\beta8$ en carcinomas murinos. Esto indica que, en algunas modalidades, la expresión en uno o más de estos tipos de células es importante para la supresión de la inmunidad antitumoral local mediada por $\alpha\beta8$.

En los Ejemplos expuestos en el presente documento, no se detectó la expresión de $\alpha\beta8$ en células T, incluidas las células T reguladoras (Tregs).

La activación de TGF β por las integrinas, incluida $\alpha\beta8$, está estrechamente y espacialmente restringida, lo que permite que las células que expresan $\alpha\beta8$ presenten TGF β localmente a las células con las que tienen contacto directo (Travis, Nature 449: 361-365, 2007; Munger, Cell 96 : 319-328, 1999). Se ha descrito que TGF β suprime la actividad de las células T efectoras. Como se demuestra en los Ejemplos expuestos en este documento, las células T CD8⁺ aumentan en los tumores tratados con ADWA11, es más probable que expresen granzima B y son importantes para mediar los efectos protectores de ADWA11. En algunas modalidades, los efectos supresores de $\alpha\beta8$ sobre las células inmunes innatas se deben a la presentación directa de TGF β activo a las células T CD8. Sin embargo, la inmunotinción para pSMAD3 no reveló indicios de señalización de TGF β en células T CD8⁺, pero mostró señalización robusta en células no hematopoyéticas (ej., células tumorales). Por tanto, en algunas modalidades, las células tumorales y algunas otras células no hematopoyéticas asociadas a tumores (ej., fibroblastos) son las células funcionalmente importantes que responden al TGF β activado por $\alpha\beta8$ y suprimen la inmunidad tumoral local.

Como se describe en los Ejemplos expuestos en el presente documento, la integrina $\alpha\beta8$ se expresa ampliamente en monocitos, macrófagos y células dendríticas en múltiples tumores murinos y humanos y es un modulador potente de la respuesta inmune antitumoral. La monoterapia (ej., ADWA11) dirigida a esta integrina es eficaz en algunos tumores. Además, la eficacia aumenta sinérgicamente al combinar la inhibición de $\alpha\beta8$ (ej., tratamiento con ADWA11) con bien sea inhibidores de puntos de

control (ej., anti-PD1 o anti-CTLA4) o un activador inmunitario (ej., anti-4-1BB) o al combinar la monoterapia de $\alpha\beta 8$ con radioterapia. Tomados en conjunto, estos resultados identifican a la integrina $\alpha\beta 8$ como un objetivo nuevo para la inmunoterapia tumoral.

5

Ejemplo 15: Evaluación adicional *in vivo* de ADWA11 2.4

Resumen de modelos tumorales para la evaluación de anti- $\alpha\beta 8$

Se evaluó la eficacia in vivo utilizando modelos de tumores singénicos en ratones inmunocompetentes. Se realizaron estudios de eficacia con una versión no

efectora del anticuerpo de hibridoma de ratón parental ADWA11_4mut debido a una fuerte respuesta al fármaco antiespecie que limita la exposición con ADWA11 2.4, que está humanizado.

10

15

Tabla 9. Modelos tumorales para la evaluación de anti- $\alpha\beta 8$

Modelo	Microambiente tumoral	Expresión de integrinas αV	Estado de la vía TGFβ
EMT6, cáncer de mama	Modelo de microambiente tumoral inmuno excluido	Expresa tanto $\alpha\beta 8$ como $\alpha\beta 6$	Perfil de expresión génica de activación de la vía de TGF β alto
CT26, cáncer de colon	Modelo inmunológico preexistente	No expresa $\alpha\beta 8$ ni $\alpha\beta 6$	Perfil de expresión génica de activación de la vía de TGF β baja

20 *Eficacia en el modelo EMT6*

Los estudios del modelo tumoral EMT6 se realizaron ortotópicamente (cuarta almohadilla de grasa mamaria) y el tratamiento con anti- $\alpha\beta 8$ con o sin inhibidores de puntos de control se realizó al mismo tiempo.

Se implantaron ratones Charles River Balb/c ($n = 10$ por grupo) con 3×10^5 o 1×10^6 células EMT6/ratón. El tratamiento se inició con un volumen tumoral medio de 50 mm^3 o 100 mm^3 .

El anticuerpo anti- $\alpha\beta 8$ parental murino ADWA11_4mut se dosificó a 10 mg/kg una vez cada cuatro días para un total de tres dosis en todos los estudios. El anticuerpo anti-PD1 (clon RMP1-14, BioXcell) se dosificó a 10 mg/kg una vez cada cuatro días para un total de tres dosis, el mAb agonista 4-1BB (clon MAB9371, R&D systems) se dosificó a 1 mg/kg una vez cada cuatro días para un total de dos dosis, y se dosificó el anti-CTLA4 (Clon 9D9, BioXcell) a 10 mg/kg una vez cada cuatro días para un total de tres dosis.

Se observó la eficacia de la monoterapia anti- $\alpha\beta 8$ de $\sim 50\%$ de inhibición del crecimiento tumoral (TGI) (en el día 10-20) cuando se implantaron 3×10^5 células y se inició el tratamiento a 50 mm^3 . Sin embargo, cuando se implantaron 1×10^6 células y se inició el tratamiento con 100 mm^3 , no se observó TGI de monoterapia anti- $\alpha\beta 8$. La diferencia en la TGI de monoterapia anti- $\alpha\beta 8$ entre los dos estudios no está clara; sin embargo, sin desear estar ligado a ninguna teoría en particular, la rápida tasa de crecimiento tumoral de este modelo cuando se implantaron 1×10^6 células podría haber limitado la respuesta o competir con la respuesta antitumoral del bloqueo de $\alpha\beta 8$. Es importante destacar que el anti- $\alpha\beta 8$ demuestra un efecto de tratamiento sinérgico significativo con anti-PD1 (7/10 respuestas completas), agonista 4-1BB (5 respuestas completas) y anti-CTLA4 (6 respuestas completas), y resultó en una mayor supervivencia en comparación con los grupos de control de isotipo y monoterapia. Por lo tanto, estos datos sugieren que los anticuerpos ADWA11 pueden proporcionar una respuesta antitumoral en el modelo tumoral EMT-6.

La monoterapia con agonistas anti-CTLA4 o 4-1BB demostró una respuesta significativa ($\sim 50\%$ de TGI, en el día 8-20); sin embargo, la respuesta fue transitoria y los tumores finalmente superaron la respuesta. Para demostrar que los tratamientos de combinación dieron como resultado una respuesta celular al tumor EMT6, en comparación con una respuesta anti-angiogénesis o anti-proliferativa, los ratones con una respuesta completa se expusieron nuevamente el día 51 (después de la 1ª dosis) con un segundo implante tumoral EMT6 pero sin tratamiento farmacológico adicional. Los tumores EMT6 crecieron rápidamente en ratones vírgenes pero se eliminaron rápidamente en los ratones que respondieron completamente, lo que indica que en algunas modalidades, que el desarrollo de inmunidad celular a las células tumorales,

ej., la muerte directa de células tumorales, no está mediado por angiogénesis o antiproliferación.

Cuantificación de la abundancia de linfocitos en el modelo tumoral EMT6

Para investigar el impacto del tratamiento de anti- $\alpha\beta 8$ en el microambiente tumoral EMT6, la abundancia de subconjuntos de linfocitos se cuantificó por IHC. Brevemente, se implantaron ratones Charles River Balb/c ($n = 10$ por grupo) con 1×10^6 células EMT6 y se inició el tratamiento con un volumen tumoral medio de 100 mm^3 (en el día 0). El anticuerpo anti- $\alpha\beta 8$ ADWA11 2.4 se dosificó a 10 mg/kg cada tres días (ej., día 0, día 3, día 6 y día 9) para un total de cuatro dosis, y los tumores se recolectaron el día 11 (48 horas después de la 4^{ta} dosis).

El análisis inmunohistoquímico (IHC) de la densidad de CD45 (linfocitos totales y células mieloides), CD3 (células T totales), células T CD4, células T CD8 y granzima B (células CD8 y NK activadas) demostró que la monoterapia anti- $\alpha\beta 8$ aumentó la abundancia de CD45 total, células T CD4, células T CD8, y aumentó de manera muy significativa la densidad de las células que expresan granzima B ($n = 10$ para cada grupo) (FIG. 15). Los datos de IHC indicaron que en algunas modalidades, la monoterapia con ADWA11 2.4 es suficiente para cambiar el microambiente tumoral, de acuerdo con el mecanismo de acción esperado (MOA) de $\alpha\beta 8$.

Eficacia en el modelo CT26

El modelo CT26 se seleccionó con base en la ausencia de expresión de $\alpha\beta 8$, respuesta parcial a la terapia anti-PD1 y evidencia en la literatura de una TGI sinérgica de un inhibidor de molécula pequeña de TGF β con dosis de radiación subóptima. La radioterapia (RT) es de particular interés debido a su capacidad para inducir la muerte celular inmunológica y el cebado de células DC-T *de novo*, donde $\alpha\beta 8$ potencialmente juega un papel importante en la configuración de la diferenciación y activación de las células T. Brevemente, se implantaron subcutáneamente a ratones Charles River Balb/c ($n = 10$ para cada grupo) células 4×10^5 y se inició el tratamiento con un volumen tumoral medio de 100 mm^3 .

El anticuerpo efector nulo anti- $\alpha\beta 8$ murino ADWA11_4mut se dosificó a 10 mg/kg Q4D x 4, se dosificó anti-PD1 (clon RMP1-14, BioXcell) a 10 mg/kg Q4D x 3, y se realizó una dosis de 5 Gy de radiación dirigida al tumor 5 días después de la primera dosis de mAb. La inclusión de anti- $\alpha\beta 8$ con RT dio como resultado un aumento

significativo en TGI con 5/9 ratones que mostraron una respuesta completa. La inclusión de anti-PD1 con RT dio como resultado una TGI menos significativa en comparación con anti- $\alpha\beta 8$, con 3/10 ratones que demostraron una respuesta completa. La triple combinación de RT, anti- $\alpha\beta 8$ y anti-PD1 resultó en una TGI muy significativa con 7/10 ratones con una respuesta completa. Al igual que en el estudio EMT6, los ratones con una respuesta completa fueron inmunes a la nueva exposición con células CT26.

Inmunofenotipificación de la población de células infiltrantes del tumor CT26

Para investigar el impacto del tratamiento de anti- $\alpha\beta 8$ en el microambiente tumoral CT26, la abundancia de subconjuntos de linfocitos se cuantificó por citometría de flujo. Brevemente, se implantaron ratones Charles River Balb/c ($n = 6$ para cada grupo) subcutáneamente con células 4×10^5 y el tratamiento se inició con un volumen tumoral medio de 100 mm^3 . Se dosificó anti- $\alpha\beta 8$ ADWA11 2.4 a 10 mg/kg o 1 mg/kg Q3D x 3, y los tumores se recolectaron el día 8 (48 horas después de la 3ª dosis). Los tumores se disociaron y la población de linfocitos se cuantificó mediante citometría CyTOF. Anti- $\alpha\beta 8$ (10 y 1 mg/kg) aumentó la abundancia de células T CD8 en la puerta de células T CD3. Además, las células CD8 expresaron con mayor frecuencia el granzima B, un marcador de un fenotipo activado.

Resumen

En conjunto, los estudios de PD y eficacia de EMT6 y CT26 demuestran: (1) que anti- $\alpha\beta 8$ aumenta sinérgicamente la respuesta a inhibidores múltiples de puntos de control; (2) que la eficacia anti- $\alpha\beta 8$ no depende de la expresión de $\alpha\beta 8$ por la célula tumoral; y (3) que la monoterapia anti- $\alpha\beta 8$ ADWA11 2.4 es suficiente para aumentar la abundancia de células T CD8+ GzmB+ en un microambiente tumoral.

Ejemplo 16: Farmacocinética de ADWA11 2.4 en ratones transgénicos FcRn humanos (TG32)

Se ha demostrado que el modelo de ratón TG32 es tan bueno como los modelos de mono para predecir la farmacocinética humana de los mAb IgG1 e IgG2 que exhiben una farmacocinética lineal. La farmacocinética de ADWA11 2.4 se evaluó en ratones TG32 después de una única dosis en bolo IV administrada a 0.1 , 0.3 o 3 mg/kg . Luego

se midieron las concentraciones de fármaco en suero. Como se muestra en la FIG. 25A y FIG. 25B, se observó una clara tendencia a una disminución dependiente de la dosis en el aclaramiento de anticuerpos. Esto es típico de los anticuerpos monoclonales que interactúan con los objetivos de la superficie celular e indicó que el receptor objetivo, $\alpha\beta 8$, puede actuar como un mecanismo de aclaramiento. En consecuencia, se utilizaron dos modelos farmacocinéticos separados para describir las vías de eliminación lineales (mecanismo típico de aclaramiento de anticuerpos mediado por FcRn) frente a las rutas de aclaramiento no lineales (mediadas por $\alpha\beta 8$). Para la estimación de parámetros para el aclaramiento lineal, se usó un modelo farmacocinético poblacional de dos compartimentos para ajustar los datos de 3 mg/kg solos (FIG. 25A). Para la estimación de los parámetros farmacocinéticos para el aclaramiento no lineal en múltiples dosis, se usó un modelo saturable de dos compartimentos (Michaelis Menten) para ajustar todos los datos (0.1, 0.3, 3 mg/kg) (FIG. 25B). Los parámetros farmacocinéticos lineales y no lineales estimados se muestran en las Tablas 10 y 11, respectivamente. Los parámetros farmacocinéticos lineales están dentro del rango observado para mAb típico en ratones TG32.

Tabla 10. Parámetros farmacocinéticos de dos compartimentos en ratones TG32 (IV a 3 mg/kg)

Parámetro	Estimado	%CV
CL (mL/h/kg)	0,33	9,2
CLD (mL/h/kg)	2,3	13
V1 (mL/kg)	49	2,4
V2 (mL/kg)	38	9,6
$t_{1/2}$ (día)	7,6	

CL: aclaramiento desde el compartimento central; CLD: aclaramiento de distribución intercompartimental; V1: volumen de distribución del compartimento central; V2: volumen de distribución del compartimento periférico; $t_{1/2}$, semivida terminal calculada en base a parámetros estimados.

Tabla 11. Parámetros farmacocinéticos no lineales de dos compartimentos en ratones TG32 (IV a 0.1, 0.3 y 3 mg/kg)

Parámetro	Estimado	%CV
Km (ng/mL)	1659	25
Vmax (ng/h/kg)	6596	5
CLD (mL/h/kg)	3,4	20
V1 (mL/kg)	49	4
V2 (mL/kg)	48	8

Vmax: tasa máxima; Km: concentración de sustrato para alcanzar la tasa máxima

- 5 media; CLD: aclaramiento de distribución intercompartimental; V1: volumen de distribución del compartimento central; V2: volumen de distribución del compartimento periférico.

- 10 De acuerdo con la disposición del fármaco mediada por el objetivo observado (TMDD) con base en la farmacocinética sérica, también se observó en un estudio de distribución tisular una disminución dependiente de dosis en la distribución del fármaco en múltiples tejidos (debido a la saturación de la unión al objetivo), especialmente en el riñón.

15 **Ejemplo 17: Farmacocinética en primates no humanos (NHP)**

- La farmacocinética de ADWA11 2.4 se evaluó en un estudio exploratorio de toxicología del NHP seguido de la primera dosis de un estudio de administración de dosis múltiples a 4, 40 o 100 mg/kg. Como se muestra en la FIG. 26, la exposición de ADWA11 2.4 parece ser lineal dentro de este intervalo de dosis, debido a que está por encima del rango de saturación para la disposición del fármaco mediada por el objetivo (TMDD). Se utilizó un modelo lineal de dos compartimentos para ajustar los datos (FIG. 26) y los parámetros farmacocinéticos estimados se muestran en la Tabla 12. Mientras que el CL observado y los volúmenes de distribución estaban dentro de los intervalos de los mAb típicos, el terminal $t_{1/2}$ parece estar en el extremo corto del intervalo. Sin
- 20 querer estar ligado a una teoría en particular, esto probablemente se deba a que la fase terminal no está bien definida, ya que solo se tomaron muestras hasta 7 días después de la dosis (límite del diseño del estudio ETS).

5 **Tabla 12. Parámetros farmacocinéticos de dos compartimentos en NHP (IV a 4, 40 y 100 mg/kg en la primera dosis)**

Parámetro	Estimado	%CV
CL (mL/h/kg)	0,41	8,7
CLD (mL/h/kg)	15,9	25
V1 (mL/kg)	35,6	12
V2 (mL/kg)	25,1	25
$t_{1/2}$ (día)	4,3	

CL: aclaramiento desde el compartimento central; CLD: aclaramiento de distribución intercompartimental; V1: volumen de distribución del compartimento central; V2: volumen de distribución del compartimento periférico; $t_{1/2}$, semivida terminal calculada en base a parámetros estimados.

Ejemplo 18: Farmacocinética del anticuerpo sustituto murino como monoterapia y cuando se co-dosifica con anti-PD-1

No se dispuso de datos farmacocinéticos de dosis única para los parentales (IgG de ratón), pero las exposiciones se midieron en hasta cuatro puntos temporales en varios estudios de eficacia y parecen ser consistentes en todos estos estudios. Las exposiciones de los parentales (IgG de ratón) parecen ser lineales dentro del rango de dosis investigado (1, 3 y 10 mg/kg), de acuerdo con la saturación de TMDD estimada en ratones TG32 para el anticuerpo humanizado, ADWA11 2.4. Se ajustó un modelo farmacocinético de dos compartimentos a los datos de exposición en el estudio del modelo tumoral EMT6 de respuesta a la dosis, estimando solo CL mientras se fijaban los otros parámetros en los valores informados anteriormente para el anticuerpo humanizado en el ratón TG32. El CL estimado del parental (IgG de ratón) en estos ratones portadores de tumores fue de 0,74 ml / h / kg.

La exposición de la parental (IgG de ratón) parece ser ~ 5-50 veces menor después de un estudio de codosificación repetido con anticuerpo anti-PD-1, en comparación con aquellos a los que se les administró anticuerpo sustituto murino solo o co-dosificado con IgG 2A3 de rata control. Este fenómeno se observó en dos estudios

separados utilizando dos modelos de tumores diferentes (CT26 y EMT6). La menor exposición se debe posiblemente al aumento de la formación de ADA en presencia de anti-PD-1, como se ha informado en ratones knockout para PD-1 (Nishimura H et al., 1998, International Immunol. 10(10): 1563-72). También se ha informado en la clínica de un aumento de la formación de ADA después del tratamiento con anticuerpos anti-PD-1 (pembrolizumab).

Ejemplo 19: Predicción de PK/exposición humana

El perfil farmacocinético humano de ADW11 2.4 a dosis que saturan la disposición del fármaco mediada por el objetivo (TMDD) se predijo escalando los parámetros farmacocinéticos lineales del ratón TG32 (Tabla 13). Los parámetros farmacocinéticos humanos lineales proyectados se dan en la Tabla 13. Además, se predijo un CL humano lineal de 0.12 ml/h/kg con base en la unión de AC-SINS medido (puntuación = 2, sección 2.4), usando un modelo de plataforma PBPK. Se predijo un CL humano lineal de 0.086 ml/h/kg mediante el escalado alométrico de NHP. Estos valores de CL están dentro del intervalo 2x de la predicción con base en la escala alométrica TG32 (0.15 mL/h/kg), lo que respalda aún más que en dosis que saturan TMDD, ADW11 2.4 tendrá un perfil farmacocinético típico de los anticuerpos monoclonales.

Estos resultados indican que ADWA11 2.4 es un anticuerpo terapéutico humano potencialmente útil.

Tabla 13. Parámetros farmacocinéticos lineales humanos proyectados para ADWA11 2.4

Parámetro	Factor de escalado	Valor proyectado
CL (mL/h/kg)	0,9	0,15
CLD (mL/h/kg)	0,67	0,15
V1 (mL/kg)	0,97	39
V2 (mL/kg)	0,93	21
$t_{1/2}$ (día)	NA	12

CL: aclaramiento desde el compartimento central; CLD: aclaramiento de distribución intercompartimental; V1: volumen de distribución del compartimento central; V2:

volumen de distribución del compartimento periférico; $t_{1/2}$, semivida terminal calculada en base a parámetros estimados.

Se caracterizaron dosis únicas adicionales de ADWA11 (2.4) PK y/o TK IV y SC en ratones hFcRn TG32 machos (n = 4 u 8/grupo de dosis y monos *cynomolgus* machos (n = 1/grupo de dosis) y los parámetros farmacocinéticos humanos expuestos anteriormente en este documento se revisaron. Más específicamente, después de una única dosis intravenosa (0.1, 0.3 y 3 mg/kg en ratones TG32 y monos *cynomolgus*), la PK de ADWA11 (2,4) no fue lineal en ambas especies con una tendencia de disminución dependiente de la dosis en CL, coherente con la disposición saturable del fármaco mediada por el objetivo. A dosis superiores al aclaramiento saturable, la PK de ADWA11 (2.4) es lineal y coherente con un mAb IgG1 humano típico. Los parámetros PK y TK medios después de una única dosis SC de 10 mg/kg, T_{max} se observaron 240 horas después de la dosis, y se estimó que la biodisponibilidad era aproximadamente del 100% en base a la comparación con el AUC_{inf} normalizado por dosis después de una única dosis IV de 3 mg/kg.

Se espera que ADWA11 (2.4) sea dependiente de la dosis a dosis más bajas que las expuestas anteriormente en otra parte de este documento. Es decir, la PK humana de ADWA11 (2.4) se predijo con base en el escalado alométrico del modelo de PK de mono *cynomolgus* que incluye aclaraciones lineales y no lineales. Los parámetros de PK humana pronosticados revisados son los siguientes: 36 ml/kg para el volumen de distribución para el compartimento central, 33 ml/kg para el volumen de distribución para el compartimento periférico, 0.12 ml/kg/h para el aclaramiento del compartimento central (CL lineal), 0.51 ml/kg/h para el aclaramiento intercompartimental, y la tasa máxima de eliminación no lineal de 0.46 µg/ml/h y una K_m de 0.42 µg/ml para el aclaramiento no lineal. Este modelo predice que es probable que el aclaramiento no lineal de ADWA11 (2.4) se sature por encima de la concentración plasmática de 14 µg/ml con una $t_{1/2}$ prevista de aproximadamente 15 a 17 días.

Ejemplo 20: Relación farmacocinética-farmacodinámica y predicción de la dosis humana eficaz

En ausencia de respuestas claras de exposición a TGI en modelos de tumores singénicos de ratón, la dosis de 10 mg/kg se consideró la dosis eficaz para estimar una

concentración eficaz. Utilizando el modelo farmacocinético para el (IgG de ratón) parental, la concentración media (C_{avg}) se estimó en 107 $\mu\text{g/ml}$ el día 12 (4 días después de la última dosis en el estudio con dosis Q4D x 3 a 10 mg/kg) . Los valores de C_{avg} similares, aunque ligeramente más altos, se estiman calculando el AUC utilizando la regla del trapecioide lineal a partir de los datos de exposición disponibles.

Debido a que se suele esperar una farmacocinética de anticuerpos para ADWA11 2.4 a estos niveles de concentración eficaces, se utilizó el modelo farmacocinético de dos compartimentos con parámetros de ratón TG32 escalados (Tabla 13) para la predicción de la dosis en humanos (Betts MABS (2018) 1-14).

Además, las dosis humanas predichas utilizando los parámetros farmacocinéticos de NHP escalados difieren solo en aproximadamente un 20% de las predichas usando el ratón TG32. Para igualar el C_{avg} , se predice una dosis IV humana eficaz de 7 mg/kg para la dosificación de Q14D x 3, mientras que se predice una dosis IV de 12 mg/kg para la dosificación de Q28D x 3 (FIG. 27A-27B). La dosis también puede adaptarse a poblaciones particulares de pacientes, indicaciones clínicas y/o signos y síntomas clínicos.

La predicción de la PK humana de ADWA11 2.4 se refinó con base en la escala alométrica de los monos *cynomolgus* y el resultado de estudios de eficacia preclínicos adicionales. La predicción de la dosis eficaz (C_{eff}) se determinó como la concentración plasmática que es igual a 10 veces el efecto medio máximo sobre la inhibición del crecimiento tumoral en diferentes estudios utilizando los 2 modelos de tumores de ratón anteriores. Se estimó que C_{eff} estaba en el intervalo de 10-98 nM en todos los estudios; por lo tanto, se utilizó un enfoque conservador para definir 100 nM (el extremo superior del intervalo) como la C_{eff} objetivo Se predijo que la dosis eficaz en humanos de ADWA11 2.4 era de aproximadamente 2 mg/kg IV Q14D o 4 mg/kg IV Q28D, que se predijo para proporcionar una cobertura de inhibición del crecimiento tumoral $> CI_{90}$ a la concentración mínima estimada de fármaco (100 nM). Las C_{max} , C_{ave} y C_{min} proyectadas en el estado estacionario a las dosis eficaces previstas son 84, 44 y 29 $\mu\text{g/mL}$ seguido de 2 mg/kg Q14D (IV), y 132, 45 y 21 $\mu\text{g/mL}$ seguido de 4 mg/kg Q28D (IV), respectivamente. La $t_{1/2}$ prevista en humanos es aproximadamente de 15 a 17 días a la dosis eficaz prevista.

Estos resultados apoyan que ADWA11 2.4 es un anticuerpo terapéutico humano potencialmente útil porque puede dosificarse en cantidades comercialmente factibles y razonables de producir.

Ejemplo 21: Toxicocinética de dosis repetidas en ratón CD-1

Se realizaron evaluaciones de anticuerpos toxicocinéticos y antifármacos después de una dosis semanal intravenosa (IV) o subcutánea (SC) de ADWA11 2.4 a 10 (IV), 100 (SC) o 200 (IV) mg/kg/semana para un total de 4 dosis a ratones CD-1 (n = 3/sexo/grupo de dosis) como parte de un estudio de toxicidad de dosis repetidas de GLP.

No hubo concentraciones cuantificables de ADWA11 2.4 en las muestras recolectadas y analizadas del grupo de control del vehículo en ningún momento durante el estudio. Según una revisión cualitativa de los datos, no hubo diferencias consistentes relacionadas con el sexo en la exposición sistémica (según lo evaluado por C_{max} y AUC₁₆₈), por lo tanto, los parámetros toxicocinéticos medios del grupo se presentan utilizando datos combinados de ratones CD-1 machos y hembras (Tabla 18).

Tabla 18. Parámetros toxicocinéticos medios generales para ADWA11 2.4 en ratones CD-1.

Dosis (mg/kg/semana)/Vía	Día	C _{max} (µg/mL)	T _{max} (hora)	AUC ₁₆₈ (µg·h/mL)
10/IV	1	199	0,54	15400
	22	615	1,1	46400
100/SC	1	871	72	104000
	22	750	18	591000
200/IV	1	5020	0,25	258000
	22	6510	0,54	267000

AUC₁₆₈ = Área bajo la curva de concentración-tiempo desde el tiempo 0 a 168 horas; C_{max} = concentración máxima observada; T_{max} = hora en la que se observó por primera vez la C_{max}.

Seguido de la administración intravenosa, la exposición sistémica aumentó con el aumento de la dosis de una manera aproximadamente proporcional a la dosis el día 1, y menos que proporcional a la dosis el día 22. Las relaciones medias de acumulación (AUC₁₆₈, día 22/día 1) fueron 3.0, 0.6 y 1.0 para 10 mg/kg/semana (IV), 100 mg/kg/semana (SC) y 200 mg/kg/semana (IV), respectivamente. La falta de acumulación después de la administración repetida de 100 mg/kg/semana (SC) y 200

mg/kg/semana (IV) podría estar relacionada con la presencia de ADA en animales en estos grupos de dosis.

La incidencia global de inducción de ADA a ADWA11 2.4 fue del 28% (5/18 animales). La incidencia de inducción de ADA a ADWA11 2.4 fue del 0% (0/6 animales), 67% (4/6 animales) y 17% (1/6 animales) en ratones CD-1 a los que se les administró ADWA11 2.4 a 10 (IV), 100 (SC) o 200 (IV) mg/kg/semana, respectivamente. En general, la exposición en los animales ADA positivos fue similar o menor en comparación con los animales ADA negativos.

10 Ejemplo 22: Toxicocinética de dosis repetidas en monos *Cynomolgus*

Se realizaron evaluaciones de anticuerpos toxicocinéticos y antifármacos después de la dosificación semanal intravenosa (IV) o subcutánea (SC) de ADWA11 2.4 a las dosis de 8 (IV), 100 (SC) y 200 (IV) mg/kg/semana para un total de 5 dosis a monos *cynomolgus* como parte de un estudio de toxicidad de dosis repetidas de GLP.

15 No hubo concentraciones cuantificables de ADWA11 2.4 en las muestras recolectadas y analizadas del grupo de control del vehículo en cualquier momento durante el estudio, o en cualquier grupo dosificado con artículo de prueba antes de la dosificación el Día 1. No hubo diferencias aparentes relacionadas con el sexo en las exposiciones sistémicas (según lo evaluado por C_{max} y AUC₁₆₈) entre los grupos de
20 dosis; por lo tanto, los parámetros TK medios del grupo se discuten y presentan utilizando datos combinados de monos *cynomolgus* machos y hembras (Tabla 19).

Tabla 19. Parámetros toxicocinéticos medios generales para ADWA11 2.4 en monos *cynomolgus*.

Dosis (mg/kg/semana)/Vía	Día	C _{max} (µg/mL)	T _{max} (hora)	AUC ₁₆₈ (µg·h/mL)
8/IV	1	248	0,54	17300
	22	394	6,3	44600
100/SC	1	1270	72	161000
	22	2880	32	393000
200/IV	1	6200	1,1	479000
	22	11400	2,7	1100000

AUC_{168} = Área bajo la curva de concentración-tiempo desde el tiempo 0 a 168 horas; C_{max} = concentración máxima observada; T_{max} = hora en la que se observó por primera vez la C_{max} .

Después de la dosificación semanal de 8 (IV), 100 (SC) y 200 (IV) mg/kg, la exposición sistémica aumentó aproximadamente en proporción a la dosis tanto en el Día 1 como en el Día 22, con tasas de acumulación (Día 22 del estudio/Día 1 del estudio) que variaban de aproximadamente 2.3 a 2.6.

La incidencia global de inducción de ADA a ADWA11 2.4 fue del 39% (7/18 animales) en todos los grupos de dosis. La incidencia de inducción de ADA a ADWA11 2.4 fue del 17% (1/6), 33% (2/6) y 67% (4/6) para los animales que recibieron ADWA11 2.4 en 8 (IV), 100 (SC) o dosis de 200 (IV) mg/kg/semana, respectivamente. En general, la exposición fue similar en los animales ADA positivos en comparación con los animales ADA negativos.

Ejemplo 23: Toxicología no clínica en ratones y monos *cynomolgus*

Se administró ADWA11 2.4 a ratones y monos *cynomolgus* en estudios intravenosos (IV) y subcutáneos (SC) de hasta 1 mes de duración. Los órganos objetivo identificados en estos estudios incluyeron cambios en los huesos, el bazo y la química clínica, aunque los cambios no se consideraron adversos. Los niveles de efectos no adversos (NOAEL) en los estudios de 1 mes fueron 200 mg/kg/semana IV (C_{max} y AUC_{168} 6510 $\mu\text{g/mL}$ y 267000 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$) para ratones y (C_{max} y AUC_{168} 11.400 $\mu\text{g/mL}$ y 1,100,000 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$) monos *cynomolgus*, respectivamente.

Toxicidad de dosis única

ADWA11 2.4 se toleró después de una dosis SC única de 10, 30 o 100 mg/kg en ratones hembras CD-1 seguida de una fase de observación de 2 semanas. No hubo ningún hallazgo relacionado con el artículo de prueba durante el estudio y la exposición sistémica media aumentó con cada dosis de una manera proporcional a la dosis, medida por el área bajo la curva (AUC). A 100 mg/kg, la C_{max} y el AUC_{336} medias fueron 795 $\mu\text{g/mL}$ y 148 000 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$, respectivamente.

Toxicidad por dosis repetidas

Estudio 1: En el Estudio 1, se administró a ratones hembra CD-1 ADWA11 2.4 mediante bolo intravenoso en dosis de 0, 1, 10 o 100 mg/kg/dosis en los Días 1, 4, 8, 11 y 14. Todos los ratones sobrevivieron a la duración del estudio y se toleraron todas

las dosis. A 100 mg/kg/dosis, hubo diferencias relacionadas con el artículo de prueba en los parámetros de la química clínica, en comparación con la media de control, que incluía glucosa más baja (0.75x) y fósforo más alto (1.35x), globulina (1.09x) y nitrógeno ureico en la sangre (1.18x) sin ningún hallazgo microscópico asociado o una clara

5 relación de dosis (glucosa y fósforo). A ≤ 10 mg/kg/dosis, las diferencias relacionadas con el artículo de prueba en los parámetros de química clínica incluyeron glucosa más baja (0.77x a 10 mg/kg/dosis solamente) y fósforo más alto (1.26x), en comparación con la media de control. La exposición sistémica media aumentó con el aumento de la dosis de una manera aproximadamente proporcional a la dosis en el Día 1 y Día 11. A
10 100 mg/kg/dosis, la dosis más alta administrada, la $C_{m\acute{a}x}$ y el AUC₄₈ medias fueron 4510 $\mu\text{g/ml}$ y 124 000 $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ en el día 11.

Estudio 2: En el Estudio 2, se administró a monos *cynomolgus* ADWA11 2.4 en bolo IV una vez a la semana en dosis de 0, 4, 40 o 100 mg/kg/dosis los Días 1, 8 y 14. Todos los monos sobrevivieron a la duración del estudio y se toleraron todas las dosis.

15 Los únicos hallazgos relacionados con el artículo de prueba fueron disminuciones en los linfocitos T CD8+ sin tratamiento previo en monos hembras (0.21 veces el valor inicial) y machos (0.44 veces el valor inicial) en el grupo de 100 mg/kg/dosis, pero no se observaron cambios en el grupo 4 o 40 mg/kg/grupos de dosis. La exposición sistémica media aumentó con el aumento de la dosis de una manera aproximadamente
20 proporcional a la dosis en el Día 1. A 100 mg/kg/dosis, la dosis administrada más alta, la $C_{m\acute{a}x}$ y el AUC₁₆₈ medias fueron 3550 $\mu\text{g/ml}$ y 162000 $\mu\text{g/ml}$ el día 1.

Estudio 3: En el Estudio 3, ADWA11 2.4 se administró a monos *cynomolgus* machos mediante inyección intravenosa en bolo el día 1 a dosis de 0.1, 0.3 o 3 mg/kg, o mediante inyección subcutánea a 10 mg/kg. Posteriormente, a los animales a los que
25 se les administró 0.1 o 0.3 mg/kg (IV) el día 1 también se les administraron 30 o 100 mg/kg mediante inyección SC, respectivamente, el día 8. Se toleraron todas las dosis/vías de administración administradas. No hubo observaciones en vida relacionadas con el artículo de prueba (es decir, signos clínicos o cambios en el peso corporal o el consumo de alimentos) durante un período de observación de 22 o 29 días
30 después de la administración de la dosis. No hubo evidencia de eritema o edema en los lugares de inyección.

Seguido de la administración intravenosa única de 0.1, 0.3 y 3 mg/kg el día 1, las exposiciones sistémicas al fármaco aumentaron proporcionalmente a la dosis entre 0.1 y 0.3 mg/kg, y más que a la dosis proporcionalmente entre 0.3 y 3 mg/kg. Seguido de la

administración SC única de 10 mg/kg el día 1, o de 30 mg/kg y 100 mg/kg el día 8, las exposiciones sistémicas al fármaco aumentaron proporcionalmente a la dosis. La biodisponibilidad subcutánea relativa a la dosis IV de 3 mg/kg fue de 103%, 79% y 100% a 10, 30 y 100 mg/kg, respectivamente. Se toleró la administración de ADWA11 2.4 a 0.1, 0.3 o 3 mg/kg (IV) o 10, 30 o 100 mg/kg (SC) a monos *cynomolgus* y la exposición sistémica aumentó con la dosis.

Estudio 4: En el Estudio 4, ADWA11 2.4 se administró una vez a la semana a ratones CD-1 machos y hembras mediante dosis IV y/o SC de 0 (IV y SC), 10 (IV), 100 (SC) o 200 (IV) mg/kg/semana durante 1 mes (5 dosis totales). Los hallazgos relacionados con el artículo de prueba se limitaron a alteraciones no adversas en la química clínica, parámetros de inmunofenotipificación en el bazo y pesos esplénicos.

Todos los animales sobrevivieron a la necropsia programada con la excepción de un macho de 100 (SC) mg/kg/semana que se encontró muerto el día 5; sin embargo, la muerte de este animal no se consideró relacionada con el artículo de prueba. Se observó autólisis post mórtem en varios órganos y una causa de muerte en el grupo de 200 (IV) mg/kg/semana e incluyó una mayor globina (1.15x a 1.16x) en ambos sexos, menor índice de AG (0.85x) en las mujeres y mayor proteína (1.11x) en machos en comparación con controles concurrentes. La administración del artículo de prueba de mAb aumentó la concentración sistémica de gammaglobulina y probablemente contribuyó a estas alteraciones en las proteínas séricas. Debido a su pequeña magnitud y la falta de hallazgos microscópicos o macroscópicos asociados, estas observaciones en los parámetros de química clínica no fueron adversas. En el bazo, el artículo relacionado de prueba disminuyó el número de células T CD8+ (0.52x, 0.65x y 0.60x media de control) en mujeres y aumento los porcentajes de células T CD4+ que expresan el marcador de activación CD25 (1.62x, 1.90x y 1.52 x media de control) en los machos se observaron en 10 (IV), 100 (SC) y 200 (IV) mg/kg/semana, respectivamente, el día 30. Los pesos esplénicos medios absolutos y relativos (a los pesos corporales y cerebrales) fueron menores (0.86x a 0.88x de control) en las hembras a 200 (IV) mg/kg/semana. No hubo hallazgos macroscópicos o microscópicos correlacionados para los pesos más bajos del bazo. Según una revisión cualitativa de los datos, no hubo diferencias consistentes relacionadas con el sexo en la exposición sistémica según lo evaluado por C_{max} y AUC_{168} . La exposición sistémica aumentó al aumentar la dosis IV o SC. Después de la administración repetida, las exposiciones aumentaron a 10 mg/kg/semana (IV), disminuyeron a 100 (SC) mg/kg/semana y

permanecieron iguales a 200 (IV) mg/kg/semana. La incidencia de la inducción de anticuerpos anti-fármaco (ADA) a ADWA11 2.4 fue 0% (0/6), 67% (4/6) y 17% (1/6) a las 10 (IV), 100 (SC) o 200 (IV) mg/kg/semana, respectivamente. No hubo indicios de hallazgos microscópicos relacionados con ADWA11 2.4 en el corazón o la piel un mes después de la administración de ADWA11 2.4.

Seguido de la administración de dosis repetidas, las exposiciones en los animales con ADA positiva fueron similares o ligeramente inferiores en comparación con los animales con ADA negativa. La dosis más alta administrada, 200 (IV) mg/kg/semana, se identificó como el nivel sin efectos adversos observados (NOAEL) con base en la falta de hallazgos adversos en cualquier dosis y se asoció con una C_{max} de 6,510 $\mu\text{g/ml}$, y AUC_{168} de 267,000 $\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ el día 22.

Estudio 5: En el Estudio 5, se administró a los monos *cynomolgus* ADWA11 2.4 como dosis IV y/o SC de 0 (IV y SC), 8 (IV), 200 (IV) o 100 (SC) mg/kg/semana durante 1 mes (5 dosis totales). No hubo hallazgos adversos relacionados con el artículo de prueba en este estudio. Los hallazgos no adversos relacionados con el artículo de prueba incluyeron displasia fisaria unilateral en la unión costocondral en los hombres y alteraciones en las proteínas séricas (aumento de globulina (hasta 1.29x), proteína total (hasta 1.10x) y/o disminución de la proporción de globulina de albúmina (hasta 0.75x) en hembras a 100 (SC) mg/kg/semana y en ambos sexos a 200 (IV) mg/kg/semana. La exposición sistémica (evaluada por C_{max} y AUC_{168}) fue similar en hombres y mujeres en todos los grupos de dosis y la exposición sistémica media en los grupos de dosis intravenosa aumentó con el aumento de la dosis de una manera aproximadamente proporcional a la dosis en los días 1 y 22. Las exposiciones aumentaron después de la administración repetida en todos los grupos. No hubo indicios de hallazgos microscópicos relacionados con ADWA11 2.4 en el corazón o la piel un mes después de la administración de ADWA11 2.4.

La incidencia de inducción de ADA fue del 17% (1/6 animales), 33% (2/6 animales) y 67% (4/6 animales) para los animales que recibieron ADWA11 2.4 a 8 (IV), 100 (SC) o dosis de 200 (IV) mg/kg/semana, respectivamente; la incidencia de inducción de ADA a ADWA11 2.4 fue del 39% en todos los grupos de dosis. La exposición al suero fue generalmente similar en animales ADA positivos en comparación con animales ADA negativos. Después de la administración IV o SC una vez a la semana de ADWA11 2.4, 200 (IV) mg/kg/semana se identificaron como el NOAEL en este estudio de toxicidad de 1 mes en monos con base en la falta de

hallazgos adversos en cualquier evaluación en vida o post mortem. A 200 (IV) mg/kg/semana, la C_{max} media fue de 11.400 $\mu\text{g/mL}$ y el AUC_{168} medio fue de 1.100.000 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ el día 22.

Los NOAEL en los estudios de 1 mes fueron 200 mg/kg IV para ratones (C_{max} y AUC_{last} 6510 $\mu\text{g/mL}$ y 267000 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$) y monos *cinomolgus* (C_{max} y AUC_{last} 11,400 $\mu\text{g/mL}$ y 1,100,000 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$), respectivamente.

Ejemplo 24: Unión *in vitro* a la proteína del complemento C1q y FcR

El potencial de ADWA11 2.4 para causar citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) y citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC) se investigó en ensayos de cribado *in vitro* mediante la unión de los receptores gamma C1q y Fc (FcγR), respectivamente. ADWA11 2.4 no se unió a C1q en las concentraciones probadas (hasta 30 $\mu\text{g/mL}$) y por lo tanto se considera que tiene un bajo potencial para inducir CDC. La unión de ADWA11 2.4 a todos los FcγR probados fue similar o menor en comparación con la unión a un anticuerpo de control negativo y menor en comparación con la unión a un anticuerpo de control positivo. Por lo tanto, se considera que ADWA11 2.4 tiene un bajo potencial para provocar la actividad de ADCC.

Ejemplo 25: Ensayo de liberación de citocinas *in vitro*

Se realizó un ensayo de liberación de citocinas *in vitro* en formatos de sangre total y PBMC utilizando muestras de 8 donantes humanos. No se observó liberación de TNF, IL-6 o INF- γ relacionada con el artículo de prueba después de la incubación con ADWA11 2.4. Estos datos son consistentes con la falta de cambios en los perfiles de citocinas séricas después de la administración de ADWA11 2.4 en los estudios en ratones y monos descritos anteriormente.

Ejemplo 26: La inhibición de $\alpha\text{v}\beta 8$ mejora la eficacia de la terapia anti-PD-1 en el modelo tumoral MC38

Métodos:

En este estudio, la línea celular de carcinoma de colon murino MC38 se mantuvo en medio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) que contiene suero bovino fetal al 10%, glutamina 2 mM, 100 unidades/ml de penicilina G sódica, 100 $\mu\text{g/mL}$ de sulfato de estreptomicina y 25 $\mu\text{g/mL}$ de gentamicina. Las células se cultivaron en matraces de

cultivo de tejidos en una incubadora humidificada a 37 °C, con una atmósfera de 5% de CO₂ y 95% de aire. El día de la implantación del tumor, se recolectaron células tumorales MC38 durante el crecimiento exponencial y se resuspendieron en solución salina tamponada con fosfato (PBS). Cada ratón recibió 5 x 10⁵ células en una suspensión de 0.1 ml por vía subcutánea (sc) en el flanco derecho. Los tumores se midieron en dos dimensiones para controlar el crecimiento a medida que el volumen medio se acercaba al rango de 80-120 mm³. Volumen (V) = $\frac{1}{2} L \times W^2$, y L (longitud) se define como el diámetro más largo del tumor y W (ancho) es perpendicular a L. El día 1 del estudio, los animales se clasificaron en siete grupos (n = 10 por grupo) con volúmenes tumorales medios de grupo de 100 mm³ y se trataron como se describe a continuación. Las mediciones tumorales se registraron 2-3 veces por semana hasta que el volumen del tumor alcanzó más de 1200 mm³.

Se realizó un análisis de PCR cuantitativa (qPCR) de la expresión génica en 30 mg de tejido tumoral recolectado homogeneizado en 900 µl de tampón de lisis suministrado en el mini kit RNeasy Plus, utilizando Omin Bead Ruptor. El ARN de muestras de tumores homogeneizados se aisló utilizando el Mini Kit RNeasy Plus y los protocolos recomendados por el proveedor. La concentración de ARN se cuantificó utilizando el espectrofotómetro Epoch BioTek y se resuspendió a 200 ng/µL con ddH₂O. El ADNc se sintetizó utilizando 2 µg de ARN total y el kit de transcripción inversa de ADNc de alta capacidad, utilizando los protocolos recomendados por los proveedores. La expresión génica se analizó utilizando 50 ng de ADNc y cebadores taqman específicos a genes, TaqMan Universal Master Mix II y protocolos recomendados por el proveedor. El sistema de qPCR en tiempo real ViiA7 se utilizó para los estudios de qPCR. Los ciclos de umbral (CT) para cada muestra se analizaron utilizando el método de CT comparativo recomendado y la expresión de genes objetivo se reportó como cambio de plegado del grupo de tratamiento en comparación con el grupo de control de isotipo. Se utilizó una prueba T de Student de dos colas no apareada para comparar el grupo de tratamiento con el grupo de control de isotipo con una significación reportada de <0.05.

Resultados

Para investigar el efecto del bloqueo α CD8 sobre la abundancia de linfocitos tumorales, se recolectó tejido tumoral el día 12 (tratamiento con anticuerpos los días 1, 5, 9) de ratones tratados con control de isotipo o ADWA11 VH05-2/VK01 (ADWA 2.4) y

se analizó para expresión de ARNm del marcador de linfocitos mediante PCR cuantitativa. El tratamiento con ADWA11 VH05-2/VK01 (ADWA 2.4) aumentó el nivel de expresión de CD8a (2.62 ± 0.763) y granzima B (5.79 ± 1.55) en el microambiente tumoral (veces de plegado $\pm$ desviación estándar vs grupo de isotipo, grupo de tratamiento de 10 mg/kg) (HIGO. 31A. Estos datos demuestran que el tratamiento con el anticuerpo ADWA11 2.4 aumenta la abundancia de linfocitos activados, que juegan un papel en la regresión tumoral, en el microambiente tumoral.

El tratamiento con ADWA11 2.4 resultó en una TGI del 18% el día 15 del estudio, mientras que el tratamiento con anticuerpo anti-PD-1 (RMP1-14) resultó en una TGI del 10.3% el día 16 del estudio y ningún ratón alcanzó el final del estudio (0% de supervivencia al día 30). En comparación, ADWA11 2.4 en combinación con anti-PD-1 dio como resultado una TGI del 35.8% el día 16 del estudio y el 60% de los ratones alcanzó el final del estudio (% de supervivencia el día 30) (FIG. 31B panel superior). Estos resultados demuestran que la terapia de combinación de anti-PD1 y anti- α CTLA-4, como se ejemplifica por los anticuerpos usados en este documento, proporciona un efecto antitumoral sinérgico inesperado. Estos datos indican que la terapia de combinación de los nuevos anticuerpos anti- α CTLA-4 (ej., ADWA11 2.4) descritos en el presente documento y los anticuerpos anti-PD-1 bien conocidos en la técnica, proporciona un agente terapéutico potencial nuevo para el tratamiento de tumores.

Aunque las enseñanzas divulgadas se han descrito con referencia a diversas aplicaciones, métodos, kits y composiciones, se apreciará que se pueden realizar diversos cambios y modificaciones sin apartarse de las enseñanzas de la presente y la invención reivindicada a continuación. Los ejemplos anteriores se proporcionan para ilustrar mejor las enseñanzas divulgadas y no pretenden limitar el alcance de las enseñanzas presentadas en este documento. Si bien las presentes enseñanzas se han descrito en términos de estas modalidades ejemplares, el experto en la materia comprenderá fácilmente que son posibles numerosas variaciones y modificaciones de estas modalidades ejemplares sin experimentación excesiva. Todas estas variaciones y modificaciones están dentro del alcance de las enseñanzas actuales.

Todas las referencias citadas en el presente documento, incluyendo patentes, solicitudes de patentes, documentos, libros de texto y similares, y las referencias allí citadas, en la medida en que no lo son ya, se incorporan como referencia en su totalidad para todos los propósitos. En el caso de que una o más de las publicaciones incorporadas y materiales similares difieran o contradigan esta solicitud, incluidos, pero

sin limitarse a, los términos definidos, utilización de términos, técnicas descritas, o similares que controla esta solicitud.

5 Será evidente para los expertos en la técnica que pueden realizarse varias modificaciones y variaciones en la presente invención sin apartarse del alcance o espíritu de la invención. Otras modalidades de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la consideración de la especificación y práctica de la invención descrita en el presente documento. Se pretende que la especificación y ejemplos se consideren solo como ejemplos, con un verdadero alcance y espíritu de la invención que se indica en las siguientes reivindicaciones.

10

REIVINDICACIONES

Lo que se reivindica es:

1. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha v\beta 8$, en donde el anticuerpo o fragmento es al menos un anticuerpo o fragmento seleccionado del grupo que consiste en:

- (a) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región determinante de complementariedad de cadena ligera 1 (CDR-L1) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 11; una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 12; una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 13; una CDR1 de cadena pesada (CDR-H1) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 8; una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 9; y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 10;

En algunos aspectos, el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, comprende una CDR-L1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 17; una CDR-L2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 18; una CDR-L3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 19; una CDR-H1 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 14; una CDR-H2 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 15; y una CDR-H3 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 16.

- (c) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región ligera variable (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por el inserto del plásmido depositado con la ATCC y que tiene el número de acceso PTA-124918, y una región pesada variable (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por el inserto del plásmido depositado con la ATCC que tiene el Número de Acceso PTA-124917;
- (d) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO:

- 7, y una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 6;
- (e) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEC ID NO: 62-66, y una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEC ID NO: 34-38;
 - (f) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEC ID NO: 47 y 92, y una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en la SEC ID NO: 39 y 88-91;
 - (g) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que comprende la SEC ID NO: 7 y 67-69, y una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que comprende la SEC ID NO: 6 y 93;
 - (h) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consta de la SEC ID NO: 7, 47-69 y 92, y una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consta de la SEC ID NO: 6, 34-46, 88-91 y 93;
 - (i) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de cadena ligera (LC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5, y una región de cadena pesada (HC) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 2;
 - (j) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5, y una región de HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 3;
 - (k) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID

NO: 123, y una región de HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 124 o 182;

- (l) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región VL codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 186 y una región VH codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 190; y
- (m) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende una región de LC codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 185 y una región de HC codificada por la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 189 o 191.

2. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 1, que comprende una región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7, y una región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6.

3. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de las reivindicaciones 1 o 2, que comprende una región VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEC ID NO: 7, y una región VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEC ID NO: 6.

4. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de la reivindicación 1, que comprende una región de LC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5, y una región de HC que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 2 o 3.

5. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo de las reivindicaciones 1 o 4, que comprende una región de LC que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEC ID NO: 5, y una región de LC que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEC ID NO: 2 o 3.

6. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha v \beta 8$, en donde el anticuerpo o fragmento comprende

una región VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95 %, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consta de la SEC ID NO: 6, 34-46, 88-91 y 93, y/o una región VL que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consta de la SEC ID NO: 7, 47-69 y 92.

7. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$, en donde el anticuerpo o fragmento comprende:

(i) un anticuerpo de HC que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 2 o 3; y/o

(ii) un anticuerpo LC que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 5.

8. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$, que comprende una LC que consta de la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5 y una HC que consta de la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 2 o 3.

9. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$, que comprende:

una región VL de anticuerpo que comprende CDR-L1, CDR-L2 y CDR-L3 de la región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7; y

una región VH de anticuerpo que comprende la CDR-H1, CDR-H2 y CDR-H3 de la región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6.

10. El anticuerpo aislado según la reivindicación 9, que comprende una región constante de la cadena pesada del anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de SEC ID NO: 181 o 184 y una región constante de cadena ligera de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 83.

11. Un anticuerpo aislado que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$, que comprende:

a) una región VL de anticuerpo que comprende la primera, segunda y tercera CDR de la región VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 7; una región VH de anticuerpo que comprende la primera, segunda y tercera CDR de la región VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 6; una región constante de cadena ligera (CL) de anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 83; y

una región constante de la cadena pesada (CH) del anticuerpo que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 181 o 184;

b) una región VL de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEC ID NO: 7; y una región VH de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos idéntica al menos en un 95% a la SEC ID NO: 6; o

c) una región LC de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEC ID NO: 5, y un anticuerpo de HC que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 95% idéntica a la SEC ID NO: 2 o 3.

12. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$, que comprende un anticuerpo VH que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por el inserto depositado en la ATCC y que tiene el número de acceso PTA-124917, y un anticuerpo VL que comprende una secuencia de aminoácido codificada por el inserto depositado en la ATCC y que tiene el Número de Acceso PTA-124918.

13. Un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une específicamente a la integrina $\alpha\beta 8$, en donde el anticuerpo o fragmento tiene al menos una de las siguientes propiedades:

- m. una afinidad de unión, expresada como KD, por la integrina $\alpha\beta 8$ humana que es menor que la KD por el anticuerpo murino ADWA11, ej., menos de 536 pM aproximadamente;
- n. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ humana que es menor o igual a aproximadamente 100 pM;
- o. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de ratón que es menor que la KD para el anticuerpo murino ADWA11, ej., menos de aproximadamente 489 pM;

- p. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de ratón que es menor de aproximadamente 100 pM;
- q. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de mono *cynomolgus* que es menor que la KD para el anticuerpo murino ADWA11, ej., menos de aproximadamente 507 pM;
- r. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de mono *cynomolgus* que es menor o igual a aproximadamente 100 pM;
- s. una KD para la integrina $\alpha\beta 8$ de rata que es aproximadamente 160 pM;
- t. afinidad aproximadamente equivalente para al menos dos, tres o la totalidad de la integrina $\alpha\beta 8$ de humano, *cynomolgus*, ratón y rata, ej., con una KD que es menor que 100 pM aproximadamente, según se determina usando un ensayo de afinidad Biacore;
- u. una CI50 para inhibir la transactivación de TGF β que es de aproximadamente 100 pM a aproximadamente 300 pM;
- v. una CE30 para células U251 de aproximadamente 100 pM a aproximadamente 400 pM;
- w. una EC50 para células C8-S de aproximadamente 110 pM a aproximadamente 180 pM; y
- x. al menos un parámetro farmacocinético (PK) humano predicho seleccionado a partir de:
 - vii. un aclaramiento del compartimento central (CL) de aproximadamente 0.12 ml/h/kg;
 - viii. un aclaramiento de distribución intercompartimental (CLF) de aproximadamente 0.51 ml/h/kg;
 - ix. un volumen de distribución para el compartimento central (V1) de aproximadamente 36 ml/kg;
 - x. un volumen de distribución para el compartimento periférico (V2) de aproximadamente 33 ml/kg;
 - xi. una semivida terminal ($t_{1/2}$) de aproximadamente 15 a 17 días; y
 - xii. sin unión detectable a receptores Fc γ humanos o C1q.

14. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende una región Fc de IgG1 humana que comprende una o más sustituciones seleccionadas de las posiciones L234, L235 y

G237 (ej., una o más de L234A, L235A y G237A), numeradas según la numeración Eu de Kabat.

15. El anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo es un anticuerpo humanizado, un anticuerpo humano, un anticuerpo murino, un anticuerpo quimérico o un anticuerpo de camélido.

16. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el isotipo de la cadena pesada del anticuerpo se selecciona a partir de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 o cualquier variante de los mismos; y/o en donde la región constante de la cadena ligera se elige entre kappa o lambda.

17. El anticuerpo aislado o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el isotipo de la cadena pesada del anticuerpo es IgG1 y/o en donde la región constante de la cadena ligera es una cadena ligera kappa.

18. Un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que compite por la unión a la integrina $\alpha\beta 8$ con un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de la reivindicación 4.

19. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones anteriores y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

20. La composición farmacéutica de la reivindicación 19, que comprende i) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una cadena pesada de anticuerpo codificada por la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 2 y una cadena ligera de anticuerpo codificada por la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5, ii) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una cadena pesada de anticuerpo codificada por la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 3 y una cadena ligera de anticuerpo codificada por la secuencia de aminoácidos de la SEC ID NO: 5, o iii) ambas.

21. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de cualquiera de las reivindicaciones 1-18.
22. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 21, en donde el ácido nucleico aislado codifica la región VH, la región VL, o ambas, del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, y en donde dicho ácido nucleico comprende: la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 190, la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 186, o ambas.
23. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 21, en donde el ácido nucleico aislado codifica la región constante de cadena pesada, la región constante de cadena ligera, o ambas, del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, y en donde el ácido nucleico comprende la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 192 o 193; la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 194; o ambas.
24. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 21, en donde el ácido nucleico aislado codifica la HC, LC, o ambas, del anticuerpo o fragmento de unión al antígeno del mismo, y en donde dicho ácido nucleico comprende: la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO: 189 o 190; la secuencia de ácido nucleico de la SEC ID NO185; o ambas.
25. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 21, en donde el nucleico aislado comprende la secuencia de ácido nucleico del inserto del plásmido depositado con la ATCC y que tiene el número de acceso PTA-124917, la secuencia de ácido nucleico del inserto del plásmido depositado con la ATCC y que tiene el Número de Acceso PTA-124918, o ambos.
26. El ácido nucleico aislado de la reivindicación 21, en donde el ácido nucleico aislado comprende una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 189 o la SEC ID NO: 191; una secuencia de ácido nucleico que tiene al menos 80%, 85%, 87% 90%, 92%, 93%, 95%, 97%, 98% o 100% de identidad de secuencia con la SEC ID NO: 185; o ambas.

27. Un vector que comprende el ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 21-26.
28. Una célula huésped que comprende el ácido nucleico de cualquiera de las reivindicaciones 21-26 o el vector de la reivindicación 27.
29. La célula huésped de la reivindicación 27, en donde la célula huésped es una célula de mamífero seleccionada del grupo que consiste en una célula CHO, una célula COS, una célula HEK-293, una célula NS0, una célula PER.C6® o una célula Sp2. 0.
30. Un método para preparar un anticuerpo aislado, o fragmento de unión a antígeno del mismo, que comprende cultivar la célula huésped de la reivindicación 28, en condiciones en donde el anticuerpo o fragmento es expresado por la célula huésped y que aísla el anticuerpo o fragmento.
31. Un método para reducir la actividad de integrina $\alpha\beta 8$ en un sujeto que lo necesita, el método que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo, o un fragmento de unión al antígeno del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones 1-18, o la composición farmacéutica de las reivindicaciones 19 o 20.
32. Un método para tratar el cáncer, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de cualquiera de las reivindicaciones 1-18, o la composición farmacéutica de las reivindicaciones 19 o 20.
33. El método de la reivindicación 32, la administración adicional de un agente citotóxico, un agente citostático, un agente quimioterapéutico, un tratamiento hormonal, una vacuna, una inmunoterapia, cirugía, radiación, criocirugía, termoterapia o una combinación de los mismos.
34. El método de la reivindicación 33, en donde la administración adicional es simultánea, secuencial o separada de la administración de la cantidad terapéuticamente

eficaz del anticuerpo, o su fragmento de unión a antígeno, o la combinación farmacéutica.

35. El método de la reivindicación 33, en donde la inmunoterapia comprende un modulador de una molécula de punto de control inmune seleccionada del grupo que consiste en un anticuerpo anti-PD1, un anticuerpo anti-PD-L1, un anticuerpo anti-PD-L2, un anti-CTLA- 4, una proteína de fusión CTLA-4 soluble y una combinación de los mismos, y en donde el anticuerpo anti-PD-L1 no es avelumab.

36. El método de cualquiera de las reivindicaciones 32-35, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, carcinoma de células renales con células claras o de células papilares, cáncer de ovario, cáncer de trompas de Falopio, cáncer primario de peritoneo, cáncer gástrico, cáncer de la unión gastroesofágica, cáncer de esófago, cáncer de pulmón de células escamosas, adenocarcinoma ductal pancreático, colangiocarcinoma, cáncer uterino, melanoma, carcinoma urotelial y combinaciones de los mismos.

37. Un método para detectar la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ en una muestra, tejido o célula usando el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de las reivindicaciones 1-18, que comprende poner en contacto la muestra, tejido o célula con el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, y detectar el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.

38. Un kit que comprende el anticuerpo o fragmento de cualquiera de las reivindicaciones 1-18, o la composición farmacéutica de las reivindicaciones 19 o 20 y que comprende opcionalmente el modulador de la reivindicación 35.

39. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, o la composición farmacéutica de las reivindicaciones 19 o 20 para su uso en la reducción de la actividad de la integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ en un sujeto que lo necesite, para el tratamiento del cáncer.

40. El anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones 1-18, o la composición farmacéutica de las reivindicaciones 19 o 20 para su uso en el tratamiento del cáncer, opcionalmente donde el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, o la composición farmacéutica es para la administración simultánea, secuencial o por separado en combinación con inmunoterapia en donde la combinación proporciona opcionalmente un efecto terapéutico sinérgico.

41. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, o la composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 40, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, carcinoma de células renales con células de tipo claras o células papilares, cáncer de ovario, cáncer de trompas de Falopio, cáncer peritoneal primario, cáncer gástrico, cáncer de unión gastroesofágica, cáncer de esófago, cáncer de pulmón de células escamosas, adenocarcinoma ductal pancreático, colangiocarcinoma, cáncer de útero, melanoma, carcinoma urotelial y combinaciones de los mismos, en donde opcionalmente el anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo o la composición o combinación farmacéutica se utilizan junto con la administración de la inmunoterapia o radioterapia.

42. Uso de un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones 1-18, o la composición farmacéutica de las reivindicaciones 19 o 20 para el tratamiento contra el cáncer.

43. Uso de un anticuerpo, o fragmento de unión a antígeno del mismo, de cualquiera de las reivindicaciones 1-18 en la fabricación de un medicamento para tratar el cáncer.

44. Un método para tratar el cáncer, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de (i) un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une específicamente a la integrina $\alpha v \beta 8$ y (ii) un modulador de una molécula de punto de control inmune anti-PD1, anti-PD-L1 o anti-PD-L2.

45. El método de la reivindicación 44, en donde el cáncer es un carcinoma de células escamosas.
46. El método de la reivindicación 44, en donde el cáncer es cáncer de colon.
47. El método de la reivindicación 44, en donde el modulador se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo anti-PD1, un anticuerpo anti-PD-L1 y un anticuerpo anti-PD-L2.

RESUMEN

La invención proporciona anticuerpos, y fragmentos de unión a antígeno de los mismos, que se unen específicamente a la integrina $\alpha v \beta 8$. La invención incluye usos y métodos asociados para usar los anticuerpos.