

ANTICUERPOS ANTI-PMEL17 Y CONJUGADOS DE LOS MISMOS

LISTADO DE SECUENCIAS

[0000] La presente solicitud contiene un Listado de Secuencias que ha sido presentado electrónicamente en formato ASCII el cual queda incorporado por completo como referencia. Dicha copia en ASCII, creada el 6 de Diciembre de 2019, se denomina PAT058359-WO-PCT_SL.txt y tiene 285,253 bytes de tamaño.

CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La presente invención se refiere en general a anticuerpos anti-PMEL17, o fragmentos de los mismos, conjugados de los mismos, que incluyen un inhibidor de GNAQ/GNA11, conjugados de los mismos, y sus usos para el tratamiento o prevención del cáncer.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] PMEL17 (también conocida como gp100 y SILV) es una proteína transmembrana de tipo I de un solo paso producida por los melanocitos y que interviene en la síntesis de melanina. A lo largo de su maduración, PMEL17 se expresa de manera transitoria en la superficie celular antes de ser traficada a melanosomas, donde PMEL17 se degrada en varios dominios que se multimerizan para formar láminas fibrilares. Tal patrón luego sirve como un soporte para atrapar melanina. La expresión de PMEL17 en los melanosomas está regulada por MITF, un oncogén de linaje, y se ha descubierto que se regula a la alza en una variedad de melanomas primarios y metastásicos uveales y subcutáneos. La expresión transitoria en la superficie celular y la posterior internalización de PMEL17 la convierten en un objetivo adecuado para desarrollar un conjugado de anticuerpo fármaco (ADC) para el tratamiento del melanoma.

PMEL17 y Cáncer

[0003] A lo largo de su maduración, PMEL17 es procesada en gran medida por las pro-proteínas convertasas. La proteína se escinde entre V467/K468 formando dos subdominios, M α en el término N y M β en el término C, supuestamente mantenidos a través de un puente disulfuro. Después de abandonar el aparato de Golgi, algunas moléculas de PMEL17 se expresan transitoriamente en la superficie celular. La mayoría de PMEL17 luego se redirige a

un melanocito para la maduración adicional, mientras que algunas PMEL17 parecen ser eliminadas. Después de las escisiones enzimáticas adicionales, PMEL17 se degrada en varios dominios que se reorganizan y forman láminas fibrilares donde la melanina se polimeriza (Valencia JC, et al. *Sorting of Pmel17 to melanosomes through the plasma membrane by AP1 and AP2: evidence for the polarized nature of melanocytes*. J Cell Sci. 2006 Mar 15;119(Pt 6):1080-91; Theos AC, et al. *The Silver locus product Pmel17/gp100/Silv/ME20: controversial in name and in function*. Pigment Cell Res. 2005 Oct;18(5):322-36).

[0004] PMEL17 constituye un objetivo terapéutico potencial para el tratamiento del melanoma. PMEL17 es un objetivo transcripcional directo de MITF, un oncogén de linaje en melanoma, según lo observado por estudios de expresión de ARNm (Du J, et al. *MLANA/MART1 and SILV/PMEL17/GP100 are transcriptionally regulated by MITF in melanocytes and melanoma*. Am J Pathol. 2003 Jul;163(1):333-43). La expresión de PMEL17 está limitada al linaje de melanocitos que incluye melanocitos de la piel, melanocitos del bulbo piloso, epitelio pigmentario de la retina, epitelio ciliar pigmentado y posiblemente los melanocitos coroides en la retina. PMEL17 también se expresa altamente en tumores de linaje de melanocitos melanoma subcutáneo y uveal. En contraste, los estudios de ARNm han demostrado que la expresión de PMEL17 es limitada en otros tipos de tumores y tejidos normales. (Wagner SN, Wagner C, Schultewolter T, Goos M. *Analysis of Pmel17/gp100 expression in primary human tissue specimens: implications for melanoma immuno-and gene-therapy*. Cancer Immunol Immunother. 1997 Jun;44(4):239-47). Además, los compuestos ADC e ImmTAC dirigidos a PMEL17 han sido descritos previamente para inducir específicamente la muerte del melanoma in vivo e in vitro y actualmente se evalúan en ensayos clínicos (Chen Y, et al. *The melanosomal protein PMEL17 as a target for antibody drug conjugate therapy in melanoma*. J Biol Chem. 2012 Jul 13;287(29):24082-91. doi:10.1074/jbc.M112.361485. Epub 2012 May 21).

GNAQ/GNA11 y Cáncer

[0005] Los genes GNAQ y GNA11 codifican la subunidad alfa de las proteínas G heterotriméricas Gq/11, que se expresan de forma casi ubicua y actúan como interruptores moleculares binarios que alternan entre los estados de unión a guanosina trifosfato (GTP) activo y de unión a guanosina difosfato (GDP) inactivo. Gq y Gα11 unidos a GTP activan las isoformas β de la fosfolipasa C, que activa una serie de vías de transducción de señales a través de la generación de los segundos mensajeros IP3 y DAG. La terminación de la señalización se desencadena por la hidrólisis de GTP mediada por la actividad intrínseca de GTPasa de estas proteínas Gα. Se ha demostrado que Gq y G11 están involucrados en una amplia gama de

funciones fisiológicas, incluida la activación plaquetaria, la hipertrofia miocárdica y el tono del músculo liso.

[0006] Las mutaciones oncogénicas en GNAQ o GNA11 ocurren en hasta 90% de los casos de melanoma uveal (UM) y en ~ 2-3% del melanoma cutáneo. Aproximadamente el 95% de estas mutaciones afectan a los codones 209 (Q209) en el dominio tipo Ras, lo que resulta en una pérdida total o parcial de la actividad de GTPasa y, por lo tanto, bloquea GNAQ/11 en su estado activo. Q209 GNAQ/11 son oncogenes de acción dominante que transforman los melanocitos al desencadenar la activación de múltiples vías que incluyen PKC/MAPK, Rho/Rac, β -catenina y YAP. Si bien la ruta PKC/MAPK se ha demostrado como un factor que contribuye a la oncogénesis mediada por GNAQ, múltiples líneas de evidencia sugieren que GNAQ/11 mutante gobierna rutas adicionales que también pueden cumplir un rol en la génesis tumoral del MU (es decir YAP, β -catenina). Curiosamente, otra mutación activadora somática en GNAQ (R183Q) ha sido descrita recientemente como la causa del síndrome de Sturge-Weber (SWS), un trastorno neurocutáneo caracterizado por malformación capilar (manchas de vino de Oporto) y malformaciones vasculares coroidales y leptomeníngeas. Por lo tanto, GNAQ y GNA11 constituyen objetivos terapéuticos potenciales para el tratamiento del melanoma uveal y cutáneo.

Conjugados de Anticuerpo Fármaco

[0007] Los conjugados de anticuerpo-fármaco ("ADCs") se han utilizado para la administración local de agentes citotóxicos en el tratamiento del cáncer (véase, por ejemplo, Lambert, Curr. Opin. In Pharmacology 5: 543-549, 2005). Los ADC permiten la administración dirigida del resto de fármaco, pudiendo lograrse la máxima eficacia con una toxicidad mínima. Los ADCs incluyen un anticuerpo seleccionado por su capacidad de unirse a una célula objetivo para la intervención terapéutica, vinculado a un fármaco seleccionado por su actividad citostática o citotóxica. La unión del anticuerpo a la célula objetivo por lo tanto entrega el fármaco al sitio donde se necesita su efecto terapéutico.

[0008] Muchos anticuerpos que reconocen y se unen selectivamente a las células objetivo, por ejemplo, las células cancerosas, se han divulgado para su uso en los ADCs. A pesar del extenso trabajo en ADCs, la unión de los anticuerpos a un objetivo particular de interés no es suficiente para predecir el éxito en las aplicaciones de ADC. Los ejemplos de factores que pueden afectar la efectividad terapéutica de los ADCs (además de las características intrínsecas del objetivo) incluyen varios aspectos que necesitan un ajuste personalizado, como la afinidad óptima del anticuerpo como un equilibrio entre la disposición mediada por el objetivo (TMDD) y la exposición que impulsa la eficacia, la evaluación de

funciones mediadas por Fc (citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos, ADCC), el método de conjugación (específico del sitio o no), la relación de las moléculas de fármaco/carga útil que se conjugan con cada anticuerpo ("DAR" o "relación fármaco-anticuerpo"), la capacidad de escisión o estabilidad del enlazador, la estabilidad del ADC y la tendencia a agregarse de un ADC.

[0009] Sigue existiendo la necesidad de contar con anticuerpos, métodos de unión y cargas útiles citotóxicas con propiedades mejoradas para usar como composiciones y métodos terapéuticos con ADCs eficaces.

SUMARIO DE LA INVENCION

[0010] En una forma de realización, la presente solicitud divulga un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a PMEL17 que comprende:

- a. una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 de cadena pesada (Región Determinante de la Complementariedad 1) de la SEQ ID NO: 1, 4, 5 o 7, una CDR2 de cadena pesada (Región Determinante de la Complementariedad 2) de la SEQ ID NO: 2, 6 u 8, y una CDR3 de cadena pesada (Región Determinante de la Complementariedad 3) de la SEQ ID NO: 3 o 9; y una región variable de cadena ligera que comprende una CDR1 de cadena ligera (Región Determinante de la Complementariedad 1) de la SEQ ID NO: 14, 17 o 20, una CDR2 de cadena ligera (Región Determinante de la Complementariedad 2) de la SEQ ID NO: 15 o 18, y una CDR3 de cadena ligera (Región Determinante de la Complementariedad 3) de la SEQ ID NO: 16 o 19;
- b. una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 33, 36, 37 o 39, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 34, 38 o 40; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 35 o 41; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 46, 49 o 52; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47 o 50; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 48 o 51;
- c. una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 5, 7, 57 o 60, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 58, 61 o 62; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 59 o 63; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 68, 71 o 74; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 69 o 72; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 70 o 73;

- d. una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 79, 82, 83 u 85, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 80, 84 u 86; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 81 u 87; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 92, 95 o 98; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 93 o 96; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 94 o 97;
- e. una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 103, 106, 107 o 109, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 104, 108 o 110; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 105 o 111; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 49, 52 o 116; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47 o 50; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 117 o 118;
- f. una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 123, 126, 127 o 129, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 124, 128 o 130; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 125 o 131; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 136, 139 o 142; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 137 o 140; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 138 o 141;
- g. una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 123, 126, 127 o 129, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 124, 128 o 130; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 147 o 148; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 153, 156 o 158; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50 o 154; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 155 o 157;
- h. una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 103, 106, 107 o 109, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 104, 108 o 110; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 163 o 164; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 49, 52 o 116; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47 o 50; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 169 o 170;
- i. una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 175, 178, 179 o 181, una CDR2 de cadena pesada de la

- SEQ ID NO: 176, 180 o 182; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 177 o 183; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 49, 52 o 116; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47 o 50; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 188 o 189;
- j. una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 103, 106, 107 o 109, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 104, 108 o 110; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 194 o 195; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 49, 52 o 116; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47 o 50; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 200 o 201;
 - k. una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 206, 209, 210 o 212, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 207, 211 o 213; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 208 o 214; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 153, 156 o 158; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50 o 154; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 219 o 220;
 - l. una región variable de cadena pesada que comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 206, 209, 210 o 212, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 207, 211 o 213; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 225 o 226; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 136, 139 o 142; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 137 o 140; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 231 o 232;
 - m. una región variable de cadena pesada que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 206, 209, 210 o 212, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 207, 211 o 213, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 237 o 238; y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 243, 245 o 247, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 47 o 50, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 244 o 246;
 - n. una región variable de cadena pesada que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 206, 209, 210 o 212, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 207, 211 o 213, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 252

- o 253; y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 153, 156 o 158, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 50 o 154, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 258 o 259;
- o. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 1, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 2, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 3, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 14, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 15, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 16;
 - p. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 4, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 2, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 3, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 14, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 15, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 16;
 - q. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 5, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 6, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 3, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 17, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 18, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 19;
 - r. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 7, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 8, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 9, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 20, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 18, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 16;
 - s. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 33, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 34, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 35, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 46, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 48;
 - t. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 36, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 34, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 35, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 46, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 48;
 - u. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 37, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 38, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 35, una

- CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 49, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 51;
- v. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 39, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 40, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 41, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 52, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 48;
 - w. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 57, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 58, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 59, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 68, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 69, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 70;
 - x. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 60, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 58, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 59, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 68, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 69, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 70;
 - y. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 5, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 61, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 59, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 71, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 72, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 73;
 - z. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 7, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 62, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 63, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 74, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 72, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 70;
 - aa. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 79, , una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 80, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 81, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 92, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 93, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 94;
 - bb. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 82, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 80, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 81, una

- CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 92, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 93, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 94;
- cc. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 83, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 84, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 81, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 95, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 96, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 97;
- dd. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 85, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 86, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 87, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 98, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 96, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 94;
- ee. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 103, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 104, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 105, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 116; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 117;
- ff. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 106, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 104, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 105, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 116, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 117;
- gg. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 107, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 108, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 105, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 49, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 118;
- hh. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 109, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 110, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 111, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 52 una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 117;
- ii. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 123, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 124, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 125, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 136, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 137, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 138;

- jj. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 126, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 124, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 125, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 136, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 137, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 138;
- kk. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 127, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 128, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 125, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 139, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 140, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 141;
- ll. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 129, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 130, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 131, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 142, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 140, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 138;
- mm. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 123, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 124, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 147, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 153, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 154, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 155;
- nn. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 126, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 124, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 147, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 153, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 154, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 155;
- oo. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 127, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 128, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 147, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 156, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 157;
- pp. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 129, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 130, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 148, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 158, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 155;
- qq. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 103, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 104, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 163, una

- CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 116, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 169;
- rr. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 106, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 104, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 163, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 116, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 169;
- ss. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 107, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 108, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 163, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 49, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 170;
- tt. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 109, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 110, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 164, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 52, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 169;
- uu. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 175, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 176, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 177, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 116, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 188;
- vv. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 178, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 176, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 177, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 116, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 188;
- ww. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 179, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 180, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 177, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 49, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 189;
- xx. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 181, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 182; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 183, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 52, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 188;

- yy. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 103, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 104, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 194, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 116, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 200;
- zz. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 106, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 104, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 194, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 116, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 200;
- aaa. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 107, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 108, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 194, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 49, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 201;
- bbb. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 109, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 110, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 195, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 52, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 200;
- ccc. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 206, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 207, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 208, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 153, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 154, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 219;
- ddd. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 209, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 207, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 208, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 153, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 154, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 219;
- eee. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 210, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 211, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 208, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 156, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 220;
- fff. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 212, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 213, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 214, una

- CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 158, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 219;
- ggg. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 206, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 207, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 225, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 136, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 137, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 231;
- hhh. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 209, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 207, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 225, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 136, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 137, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 231;
- iii. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 210, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 211, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 225, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 139, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 140, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 232;
- jjj. una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 212, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 213, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 226, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 142; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 140; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 231;
- kkk. una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 206, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 207, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 237, y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 243, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 47, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 244;
- lll. una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 209, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 207, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 237, y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 243, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 47, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 244;
- mmm. una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 210, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 211, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 237, y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 245, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 50, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 246;

- nnn. una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 212, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 213, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 238; y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 247, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 50, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 244;
- ooo. una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 206, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 207, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 252, y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 153, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 154, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 258;
- ppp. una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 209, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 207, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 252, y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 153, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 154, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 258;
- qqq. una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 210, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 211, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 252, y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 156, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 50, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 259;
- o
- rrr. una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 212, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 213, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 253; y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 158, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 50, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 258.

[0011] Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a PMEL17 de la presente solicitud puede además comprender:

- a. Una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21;

- b. Una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25;
- c. Una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29;
- d. Una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 42, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 53;
- e. Una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 75;
- f. Una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 88, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 99;
- g. Una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 112, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 119;
- h. Una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 132, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 143;
- i. Una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 149, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 159;
- j. Una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 165, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 171;

- k. Una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 190;
- l. Una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 196, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 202;
- m. Una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 215, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 221;
- n. Una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 227, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 233;
- o. Una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 239, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 248; o
- p. Una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 254, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 260.

[0012] En otra forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a PMEL17 comprende:

- a. Una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23;
- b. Una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 27;

- c. Una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31;
- d. Una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 44, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 55;
- e. Una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 77;
- f. Una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 90, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 101;
- g. Una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 114, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 121.;
- h. Una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 134, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 145;
- i. Una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 151, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 161;
- j. Una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 167, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 173;
- k. Una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 186, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 192;

- l. Una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 198, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 204;
- m. Una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 217, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 223;
- n. Una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 229, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 235;
- o. Una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 241, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 250; o
- p. Una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 256, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 262.

[0013] El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la presente puede comprender una o más sustituciones de cisteína. En una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo comprende una o más sustituciones de cisteína seleccionadas entre S152C, S375C, o ambas S152C y S375C de la cadena pesada del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde la posición se numera de acuerdo con el sistema UE. Un anticuerpo de acuerdo con la presente puede ser un anticuerpo monoclonal.

[0014] En un aspecto, el Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención es un conjugado de la Fórmula (C):



en donde:

D es un inhibidor de GNAQ, un inhibidor de GNA11 o un inhibidor de GNAQ y GNA11;

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana;

L_A es un enlazador;

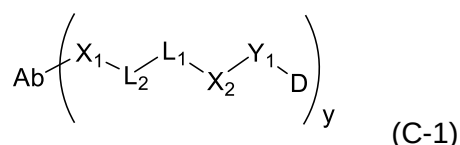
n es 1, 2, 3 o 4, y

y es 1, 2, 3 o 4,

en donde el resto Enlazador-Fármaco $-(L_A-(D)_n)$ está covalentemente unido al anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.

[0015] En otro aspecto del Conjugado de Anticuerpo Fármacos de la Fórmula (C), L_A es un enlazador escindible que comprende uno o más componentes enlazadores seleccionados entre un espaciador autoinmolativo, un grupo fosfato, un grupo carbonato y un enlazador peptídico bivalente.

[0016] En otro aspecto, el Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la Fórmula (C) es un conjugado de la Fórmula (C-1):



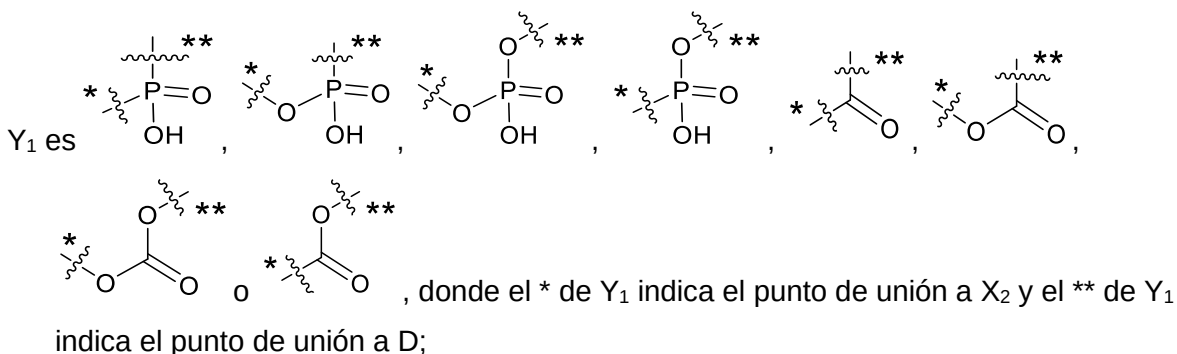
en donde:

D es un inhibidor de GNAQ, un inhibidor de GNA11 o un inhibidor de GNAQ y GNA11;

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana;

X_1 es un grupo de acoplamiento bivalente;

X_2 es un espaciador autoinmolativo;



L_1 es un enlazador peptídico bivalente;

L_2 es un enlace o un enlazador, y

y es 1, 2, 3 o 4.

[0017] La presente solicitud además divulga composiciones farmacéuticas que comprenden los anticuerpos, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, descritos en la presente y un portador farmacéuticamente aceptable. La presente solicitud además divulga

composiciones farmacéuticas que comprenden los conjugados de anticuerpo fármaco de acuerdo con la presente y un portador farmacéuticamente aceptable.

[0018] La presente solicitud además divulga métodos para tratar o prevenir el cáncer en un paciente que lo necesita, que comprende administrar a dicho paciente el conjugados de anticuerpo fármaco o las composiciones farmacéuticas que se divulgan en la presente, en donde el cáncer expresa PMEL17, contiene una mutación del gen GNAQ o GNA11, o el cáncer expresa PMEL17 y contiene una mutación de GNAQ, GNA11, o ambas.

[0019] En algunas formas de realización de los métodos de tratamiento o prevención del cáncer, el conjugado de anticuerpo fármaco o la composición farmacéutica se administran al paciente en combinación con uno o más compuestos terapéuticos adicionales. En una forma de realización, el único o más compuestos terapéuticos adicionales se selecciona entre un quimioterapéutico de estándar de cuidado, un inhibidor de MDM2, un inhibidor de MRC2, un inhibidor de PKC, un inhibidor de MAPK, una molécula coestimuladora o un inhibidor de punto de control. En una forma de realización, la molécula coestimuladora se selecciona entre un agonista de OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3, STING, o ligando CD83. En otra forma de realización, el inhibidor de punto de control se selecciona entre un inhibidor de PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 y/o TGFR beta.

[0020] La presente solicitud además divulga el conjugados de anticuerpo fármaco o las composiciones farmacéuticas que se divulgan en la presente, para uso como un medicamento. En una forma de realización, el conjugados de anticuerpo fármaco o las composiciones farmacéuticas que se divulgan en la presente, son para usar en el tratamiento o prevención de un cáncer que expresa PMEL17 o un cáncer que contiene una mutación del gen GNAQ o GNA11 en un paciente que lo necesita.

[0021] En una forma de realización, la solicitud divulga el uso de los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, el conjugados de anticuerpo fármaco, o la composición farmacéutica de acuerdo con la presente, para tratar o prevenir un cáncer que expresa PMEL17 en un paciente que lo necesita.

[0022] En una forma de realización, la solicitud divulga el uso de los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, el conjugados de anticuerpo fármaco, o las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente, para tratar o prevenir un cáncer que expresa PMEL17 o un cáncer que contiene una mutación del gen GNAQ o GNA11 en un paciente que lo necesita. En una forma de realización, la solicitud divulga el uso de los

anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos, el conjugados de anticuerpo fármaco, o las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente, en la fabricación de un medicamento.

[0023] En una forma de realización, el cáncer expresa PMEL17 o contiene una mutación del gen GNAQ o GNA11. En una forma de realización, el cáncer es melanoma uveal, melanoma subcutáneo, carcinoma hepatocelular o un cáncer metastásico de los mismos.

[0024] La presente solicitud además divulga ácidos nucleicos que codifican los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de acuerdo con la presente. En una forma de realización, el ácido nucleico comprende la secuencia de nucleótidos de las SEQ ID NOs: 13, 24, 28, 32, 45, 56, 67, 78, 91, 102, 115, 122, 135, 146, 152, 162, 168, 174, 187, 193, 199, 205, 218, 224, 230, 236, 242, 251, 257, o 26. La presente aplicación también describe vectores que comprenden los ácidos nucleicos y células huésped que comprenden los vectores o ácidos nucleicos. La presente solicitud también divulga un proceso para producir los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de acuerdo con la presente que comprende cultivar la célula huésped y recuperar el anticuerpo del cultivo celular. En una forma de realización, el proceso de recuperación del anticuerpo del cultivo celular comprende los pasos de:

- a) remover las células y filtrar el cultivo;
- b) purificar el cultivo por cromatografía de afinidad;
- c) inactivar todo virus en el cultivo ajustando el pH a 3,4-3,6, luego reajustar el pH a 5.8-6,2 y filtrar el cultivo;
- d) purificar el cultivo mediante cromatografía de intercambio catiónico y realizar una reducción en columna del cultivo;
- e) ejecutar una cromatografía de intercambio aniónico sobre el cultivo;
- f) remover los virus por nanofiltración;
- g) filtrar el cultivo que contiene el anticuerpo; y
- h) obtener anticuerpo purificado.

[0025] La presente solicitud además divulga un proceso para producir un conjugado de anticuerpo fármaco anti-PMEL17 que comprende:

(a) preformar un resto de enlazador-fármaco de la siguiente Fórmula (B):



en donde:

D es un inhibidor de GNAQ, un inhibidor de GNA11 o un inhibidor de GNAQ y GNA11;

R⁸ es un grupo reactivo;

L_B es un enlazador escindible y no escindible, y

n es 1, 2, 3 o 4;

(b) conjugar dicho resto enlazador-fármaco al anticuerpo recuperador del cultivo celular usando el proceso para producir un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno divulgado en la presente para producir un conjugado de anticuerpo fármaco; y

(c) purificar el conjugado de anticuerpo fármaco.

[0026] La presente solicitud además divulga un reactivo de diagnóstico que comprende un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la presente. En algunas formas de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo está marcado con un radiomarcador, un fluoróforo, un cromóforo, un agente de imagen o un ion metálico.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0027] Las Figuras 1A-1B ilustran ejemplos de datos sobre la actividad anti-UM in vitro de los inhibidores de GNAQ/11 Compuesto (A1) y Compuesto (A2).

[0028] La Figura 2 ilustra ejemplos de datos sobre la actividad de los inhibidores de GNAQ/11 Compuesto (A1) y Compuesto (A2) para inducir apoptosis en células de melanoma uveal.

[0029] Las Figuras 3A-3C ilustran ejemplos de datos sobre la inhibición de GNAQ/11 mediante el Compuesto (A1) y el Compuesto (A2). El Compuesto (A1) y el Compuesto (A2) redujeron los niveles de IP1 (Figura 3A) y la proliferación relativa (Figura 3B) en células 92.1. Las inmunotransferencias de células 92.1 tratadas con el Compuesto (A1) y el Compuesto (A2) mostraron una señalización reducida de ERK (Figura 3C).

[0030] Las Figuras 4A-4D ilustran ejemplos de datos sobre la estabilidad metabólica y propiedades PK del Compuesto (A1). Tanto la desaparición del Compuesto (A1) (Figura 4A) como la aparición de la forma de anillo abierto del Compuesto (A8) (Figura 4B) se monitoreó por espacio de 24h. Con la excepción de la rata, agregar el % restante del Compuesto (A1) y el % formado del Compuesto (A8) muestra estequiometría durante 24h (Figura 4C). La PK del Compuesto (A1) después de la administración intravenosa en ratones se caracteriza por un aclaramiento muy alto y un volumen de distribución de moderado a alto (Figura 4D).

[0031] Las Figuras 5A-5D ilustran ejemplos de datos sobre la la estabilidad metabólica y propiedades de PK del Compuesto (A1) y el Compuesto (A2). La estabilidad in vitro del Compuesto (A2) se probó en plasma y sangre de diferentes especies (Figura 5A). El

Compuesto (A2) mostró buena estabilidad química en tres sistemas diferentes (Figura 5B). La PK del Compuesto (A2) en ratones balb/c hembra mostró un alto aclaramiento y una vida media de eliminación corta (Figura 5C). El Compuesto (A1) y Compuesto (A2) fueron estables en tampón a un pH de 5,6 y en lisosomas por espacio de 4h (Figura 5D).

[0032] Las Figuras 6A-6B ilustran ejemplos de datos sobre la actividad in vitro de melanoma anti-uveal de ADCs anti-PMEL17-(B1). Los datos se presentan como la media de tres réplicas independientes y en relación con células tratadas con PBS (control).

[0033] La Figura 7 ilustra ejemplos de datos sobre ADCs anti-PMEL17-(B1) que inducen la apoptosis en células de melanoma uveal. Los datos se presentan como la media de 3 réplicas independientes.

[0034] Las Figuras 8A-8B ilustran ejemplos de datos sobre la actividad in vitro anti melanoma uveal de ADCs anti-PMEL17-(B2) y mAbs anti-PMEL17. Los datos se presentan como la media de tres réplicas independientes y en relación con células tratadas con PBS (control).

[0035] La Figura 9 ilustra ejemplos de datos sobre la inhibición de GNAQ/11 por ADCs anti-PMEL17-(B1) y anti-PMEL17-(B2) en células de melanoma uveal. Los niveles de IP1 (nM) se presentan como la media de 3 réplicas independientes.

[0036] Las Figuras 10A-10D ilustran ejemplos de datos sobre la actividad de unión de los anticuerpos anti-PMEL17 a plaquetas intactas y células de melanoma uveal.

[0037] Las Figuras 11A-11C ilustran ejemplos de datos sobre el impacto del Compuesto (A1) y los ADCs anti-PMEL17-(B1) en la agregación de plaquetas humanas.

[0038] Las Figuras 12A-12E ilustran ejemplos de datos sobre la actividad antitumoral in vivo de ADCs anti-PMEL17-(B1). G1-(B1) inhibió el crecimiento tumoral de una manera dependiente de la dosis (Figura 12A). Los valores son media $\pm$ SEM; tamaño de la muestra, (n=5-12 ratones por grupo). El volumen inicial del tumor al día 0 fue de aproximadamente 200-250 mm³. No se observó pérdida de peso corporal hasta 14 días después del tratamiento (Figura 12B). Los valores son media $\pm$ SEM; tamaño de la muestra, (n=4 ratones por grupo). El tratamiento con G1-(B1) dio como resultado la inhibición de la señalización de GNAQ y la inhibición de la proliferación de células tumorales según lo indicado por niveles reducidos de pERK y Ki67, respectivamente (Figura 12C). Además, G1-(B1) indujo la apoptosis celular en comparación con ratones tratados con vehículo e isotipo 3207-(B1) de control, lo cual se correlacionó con la acumulación de células tumorales de ADC G1-(B1) según lo detectado por marcado con IgG (Figura 12C). No se observaron cambios en los niveles de MITF y PMEL17

luego de la inhibición de GNAQ (Figura 12C). No se observó inhibición de la agregación plaquetaria en ratones tratados con G1-(B1) durante hasta 7 días (Figuras 12D & E).

[0039] Las Figuras 13A-13C ilustran ejemplos de datos sobre el efecto de ADC G1-(B1) en un modelo de ratón con metástasis hepática y pulmonar de melanoma uveal. Se presentan imágenes individuales de cada ratón al día 45 luego de una inyección i.v. de células 92.1 marcadas con luciferasa (justo antes del inicio del tratamiento) y 12 días después del tratamiento (Figuras 13A y 13B); tamaño de la muestra, (n=6 ratones por grupo). La BLI inicial para metástasis de hígado al día 0 fue de aproximadamente 2.8×10^9 p/seg/cm². Los tumores de pulmón (señal de bioluminiscencia) en la Figura 13B se indican con una flecha negra. La modulación del peso corporal correspondiente (% vs día 15) se evaluó 2-3 veces por semana antes y después del tratamiento con G1- (B1) 20 mg/kg (círculos grises). Los valores en la Figura 13C son media $\pm$ SEM; tamaño de la muestra, (n=5-6 ratones por grupo). El peso corporal inicial al día 15 fue de aproximadamente 21 g.

[0040] Las Figuras 14A-14E ilustran ejemplos de datos sobre las propiedades de PK de los ADCs G1-(B1). El perfil farmacocinético (niveles totales de IgG) de G1-(B1) mostró un aumento levemente sobre proporcional de la exposición con dosis de entre 7,5 y 30 mg/kg en ratones desnudos (Figura 14A). En ratones portadores de tumores, las concentraciones de carga útil libre se midieron después de la dosis de G1-(B1) de unión al objetivo o control de isotipo 3207-(B1). Se pudo observar un aumento claro (> 4 veces) en la entrega al tumor de la carga útil de Compuesto (A1) utilizando el ADC dirigido (Figura 14B). La conversión del Compuesto (A1) (círculos abiertos) en su forma de anillo abierto Compuesto (A8) (círculos llenos) mientras se conjugaba con el anticuerpo se mostró in vivo en ratones (Figura 14C). Las exposiciones en un estudio de eficacia in vivo, comparando dos formatos diferentes de DAR2 con el formato DAR4 de G1-(B1) y con el formato DAR4 Fc-silent, mostraron el aclaramiento más bajo para los ADC DAR2 (E152C) y DAR4 Fc-silent, mientras que la exposición a DAR2 (S375C) disminuye más rápido (Figura 14D). La Figura 14E ilustra la concentración de los conjugados DAR4 Fc-silent 3207 (anticuerpo de control de isotipo)-(B1) DAR4 (E152C, S375C) y 3207 (anticuerpo de control de isotipo)-(B1) DAR4 en el tiempo.

[0041] Las Figuras 15A-15C ilustran ejemplos de datos sobre la estabilidad in vitro de ADCs anti-PMEL17-GNAQ/11i en tampón, ratón, rata y plasma humano y sobre la estabilidad in vivo de ADCs anti-PMEL17-GNAQ/11i en ratón.

[0042] Las Figuras 16A-16B ilustran ejemplos de datos sobre la eficacia in vivo de G1-E152C-DAR2-(B1), G1-S375C-DAR2-(B1), G1-(B1) Fc-silent en un modelo de xenoinjerto de

melanoma uveal. Los valores representan la media $\pm$ SEM; tamaño de la muestra, (n=5-6 ratones por grupo). El volumen inicial del tumor al día 0 fue de aproximadamente 300-325 mm³.

[0043] Las Figuras 17A-17B ilustran ejemplos de datos sobre la actividad in vitro anti melanoma uveal de ADCs anti-PMEL17-(B1). Los datos se presentan como la media de tres réplicas independientes y en relación con células tratadas con PBS (control).

[0044] La Figura 18 ilustra ejemplos de datos sobre la actividad antitumoral in vivo de ADCs anti-PMEL17-(B1).

[0045] La Figura 19A-19B ilustra ejemplos de datos sobre un análisis inmunohistoquímico de biopsias tumorales de pacientes con melanoma uveal metastásico.

[0046] Las Figuras 20A-20C muestra datos de ejemplos de sensorgramas para evaluar el agrupamiento de epítomos de anticuerpos anti-PMEL. La Figura 20A ilustra las etapas de unión. La Figura 20B muestra el sensorgrama cuando el anticuerpo G1 3J LC se inmoviliza primero y se fluye sobre 17A9. La Figura 20C muestra el sensorgrama cuando 17A9 primero se inmoviliza y fluye G1 3J LC. En ambos casos, la unión se observa cuando fluye el segundo anticuerpo, lo que sugiere que G1 3J LC y 17A9 se unen a diferentes epítomos de PMEL humana.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Definiciones

[0047] Salvo indicación en contrario, los siguientes términos y frases, tal como se usan en la presente, tienen los siguientes significados:

[0048] El término "alquilo" se refiere a una cadena de hidrocarburo saturado monovalente que tiene el número especificado de átomos de carbono. Por ejemplo, alquilo C₁-C₆ se refiere a un grupo alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono. Los grupos alquilo pueden ser lineales o ramificados. Los grupos alquilo ramificados representativos tienen una, dos o tres ramas. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo (n-propilo e isopropilo), butilo (n-butilo, isobutilo, sec-butilo y t-butilo), pentilo (n-pentilo, isopentilo y neopentilo) y hexilo.

[0049] "Escindible", de acuerdo con la presente, se refiere a un grupo de enlace o componente enlazador que conecta dos restos mediante conexiones covalentes, pero que se rompe para cortar la conexión covalente entre los restos en condiciones fisiológicamente relevantes, típicamente un grupo de enlace escindible se corta in vivo más rápidamente en un

entorno intracelular que cuando está fuera de una célula, lo que hace que la liberación de la carga útil ocurra preferentemente dentro de una célula objetivo. La escisión puede ser enzimática o no enzimática, pero generalmente libera una carga útil de un anticuerpo sin degradar el anticuerpo. La escisión puede dejar una parte de un grupo de enlace o componente enlazador conectado a la carga útil, o puede liberar la carga sin ningún residuo del grupo de enlace.

[0050] “No-escindible” de acuerdo con la presente se refiere a un grupo de enlace o componente enlazador que no es especialmente susceptible a descomponerse en condiciones fisiológicas, por ejemplo, es al menos tan estable como el anticuerpo o la porción del fragmento de unión a antígeno del conjugado. Dichos grupos de enlace a veces se denominan "estables", lo que significa que son lo suficientemente resistentes a la degradación para mantener la carga útil conectada al anticuerpo o al fragmento de unión a antígeno hasta que el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se degrada al menos parcialmente en si mismo, es decir, la degradación del anticuerpo o fragmento de unión a antígeno precede a la escisión del grupo de enlace in vivo. La degradación de la porción de anticuerpo de un ADC que tiene un grupo de enlace estable o no escindible puede dejar parte o todo el grupo de enlace, por ejemplo, uno o más grupos de aminoácidos de un anticuerpo, unidos a la carga útil o al resto del fármaco que se administra in vivo.

[0051] El término “anticuerpo” de acuerdo con la presente se refiere a un polipéptido de la familia de inmunoglobulinas que es capaz de unirse a un antígeno correspondiente de manera no covalente, reversible y específica. Por ejemplo, un anticuerpo IgG natural es un tetramero que comprende por lo menos dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) interconectadas por enlaces disulfuro. Cada cadena pesada está compuesta de una región variable de cadena pesada (abreviada en la presente VH) y una región constante de cadena pesada. La región constante de cadena pesada está compuesta por tres dominios, CH1, CH2 y CH3. Cada cadena ligera está compuesta de una región variable de cadena ligera (abreviada como VL) y una región constante de cadena ligera. La región constante de cadena ligera está compuesta por un dominio, CL. Las regiones VH y VL pueden subdividirse además en regiones de hipervariabilidad, denominadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FR). Cada VH y VL se compone de tres CDR y cuatro FR dispuestas desde el terminal amino al terminal carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. Las regiones variables de cadena pesada y ligera contienen un dominio de unión que interactúa con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos pueden mediar la unión de la

inmunoglobulina a tejidos o factores huésped, incluidas varias células del sistema inmunitario (por ejemplo, células efectoras) y el primer componente (C1q) del sistema de complemento clásico.

[0052] El término “anticuerpo” incluye, aunque no se limita a, anticuerpos monoclonales, anticuerpos humanos, anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos y anticuerpos antiidiotípicos (anti-Id) (incluidos, por ejemplo, anticuerpos anti-Id para anticuerpos de la invención). Los anticuerpos pueden ser de cualquier isotipo/clase (*por ejemplo*, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA e IgY), o subclase (*por ejemplo*, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2).

[0053] Los “dominios determinantes de la complementariedad” o “regiones determinantes de la complementariedad” (“CDR”) se refieren indistintamente a las regiones hipervariables de VL y VH. Las CDRs son el sitio de unión a proteínas blanco de las cadenas de anticuerpos que albergan especificidad para dicha proteína blanco. Hay tres CDR (CDR1-3, numeradas secuencialmente desde el N-terminal) en cada VL o VH humana, que constituyen aproximadamente 15-20% de los dominios variables. Las CDRs son estructuralmente complementarias al epítipo de la proteína blanco y por lo tanto son directamente responsables de la especificidad de unión. Los tramos restantes de la VL o VH, las denominadas regiones marco, exhiben menos variación en la secuencia de aminoácidos (Kuby, Immunology, 4th ed., Chapter 4. W.H. Freeman & Co., New York, 2000).

[0054] Las posiciones de las CDR y las regiones marco se pueden determinar utilizando varias definiciones bien conocidas en la técnica, *por ejemplo*, Kabat, Chothia, international ImMunoGeneTics database (IMGT) (en internet véase www.imgt.org/), y AbM (véase, *por ejemplo*, Johnson *et al.*, Nucleic Acids Res., 29:205-206 (2001); Chothia and Lesk, J. Mol. Biol., 196:901-917 (1987); Chothia *et al.*, Nature, 342:877-883 (1989); Chothia *et al.*, J. Mol. Biol., 227:799-817 (1992); Al-Lazikani *et al.*, J.Mol.Biol., 273:927-748 (1997)). Las definiciones de los sitios de combinación de antígenos también están descritas en: Ruiz *et al.*, Nucleic Acids Res., 28:219–221 (2000); y Lefranc, M.P., Nucleic Acids Res., 29:207-209 (2001); MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol., 262:732-745 (1996); y Martin *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:9268–9272 (1989); Martin *et al.*, Methods Enzymol., 203:121–153 (1991); y Rees *et al.*, In Sternberg M.J.E. (ed.), Protein Structure Prediction, Oxford University Press, Oxford, 141–172 (1996).

[0055] Las cadenas ligeras y pesadas se dividen en regiones de homología estructural y funcional. Los términos “constante” y “variable” se utilizan funcionalmente. A este respecto, se advertirá que los dominios variables de las porciones de cadena ligera (VL) y pesada (VH) determinan el reconocimiento y especificidad del antígeno. Recíprocamente, los dominios

constantes de la cadena ligera (CL) y la cadena pesada (CH1, CH2 o CH3) confieren propiedades biológicas importantes tales como secreción, movilidad transplacentaria, unión al receptor de Fc, unión de complemento y similares. Por convención, la numeración de los dominios de la región constante aumenta a medida que se vuelven más distales del sitio de unión al antígeno o del terminal amino del anticuerpo. El N-terminal es una región variable y en el C-terminal es una región constante; los dominios CH3 y CL en realidad comprenden los dominios carboxi-terminales de la cadena pesada y ligera, respectivamente.

[0056] El término “fragmento de unión a antígeno”, de acuerdo con la presente, se refiere a una o más porciones de un anticuerpo que retienen la capacidad de interactuar específicamente (por ejemplo, mediante unión, impedimento estérico, estabilización/desestabilización, distribución espacial) con un epítipo de un antígeno. Los ejemplos de fragmentos de unión incluyen, pero no se limitan a, Fvs de cadena sencilla (scFv), anticuerpos de camélidos, Fvs unidos por disulfuro (sdFv), fragmentos Fab, fragmentos F(ab'), un fragmento monovalente que consiste en los dominios VL, VH, CL y CH1; un fragmento F(ab)₂, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra; un fragmento Fd que consiste en los dominios VH y CH1; un fragmento Fv que consiste en los dominios VL y VH de un solo brazo de un anticuerpo; un fragmento dAb (Ward *et al.*, Nature 341:544-546, 1989), que consiste en un dominio VH; y una región determinante de complementariedad aislada (CDR) u otros fragmentos de unión a epítipo de un anticuerpo.

[0057] Además, si bien los dos dominios del fragmento Fv, VL y VH, son codificados por genes separados, pueden unirse, mediante métodos recombinantes, por un conector sintético que les permite constituirse como una cadena de proteínas única en la que las regiones VL y VH se emparejan para formar moléculas monovalentes (conocidas como Fv de cadena sencilla (“scFv”); véase, *por ejemplo*, Bird *et al.*, Science 242:423-426, 1988; y Huston *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. 85:5879-5883, 1988). Dichos anticuerpos de cadena sencilla también caen dentro del alcance del término “fragmento de unión a antígeno.” Estos fragmentos de unión a antígeno se obtienen usando técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica, y los fragmentos se seleccionan por su utilidad de la misma manera que los anticuerpos intactos.

[0058] Los fragmentos de unión a antígeno también se pueden incorporar en anticuerpos de dominio único, maxicuerpos, minicuerpos, anticuerpos de dominio único, intracuerpos, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, v-NAR y bis-scFv (véase, *por ejemplo*, Hollinger and Hudson, Nature Biotechnology 23:1126-1136, 2005). Los fragmentos de unión a

antígeno pueden injertarse en andamios basados en polipéptidos tales como fibronectina tipo III (Fn3) (véase Patente Estadounidense Nro. 6,703,199, que describe los monocuerpos de polipéptidos de fibronectina).

[0059] Los fragmentos de unión a antígeno pueden incorporarse en moléculas de cadena única que comprenden un par de segmentos Fv en tándem (VH-CH1-VH-CH1) que, junto con polipéptidos de cadena ligera complementarios, forman un par de regiones de unión a antígeno (Zapata *et al.*, Protein Eng. 8:1057-1062, 1995; y Patente Estadounidense Nro. 5,641,870).

[0060] El término “anticuerpo monoclonal” o “composición de anticuerpo monoclonal” de acuerdo con la presente se refiere a polipéptidos, incluidos anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno que tienen una secuencia de aminoácidos sustancialmente idéntica o derivan de la misma fuente genética. Este término también incluye preparaciones de moléculas de anticuerpos de composición molecular única. Una composición de anticuerpo monoclonal muestra una especificidad y afinidad de unión única para un epítipo particular.

[0061] El término “anticuerpo”, de acuerdo con la presente, incluye anticuerpos que tienen regiones variables en las que tanto la región marco como las CDR se derivan de secuencias de origen humano. Además, si un anticuerpo contiene una región constante, la región constante también se deriva de tales secuencias humanas, por ejemplo, secuencias de línea germinal humana, o versiones mutadas de secuencias de línea germinal humana o secuencias marco consensuadas que contienen anticuerpo derivadas del análisis de secuencias marco humanas, por ejemplo, según lo descrito en Knappik *et al.*, J. Mol. Biol. 296:57-86, 2000). Además se incluyen anticuerpos derivados de secuencias humanas en donde una o más CDRs se han mutado con fines de maduración de afinidad o conjugación de preparación/carga útil. Véase, Kilpatrick *et al.*, “Rapid development of affinity matured monoclonal antibodies using RIMMS,” Hybridoma. 1997 Aug;16(4):381-9.

[0062] Los anticuerpos humanos de la invención pueden incluir los residuos de aminoácidos no codificados por secuencias humanas (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica del sitio in vitro o por mutación somática in vivo, o una sustitución conservadora para promover la estabilidad o la preparación).

[0063] El término “reconocer” de acuerdo con la presente se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que encuentra e interactúa (por ejemplo, se une) a su epítipo, ya sea que el epítipo sea lineal o conformacional. El término “epítipo” se refiere a un sitio en un antígeno al que se une específicamente un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la invención. Los epítopos se pueden formar tanto a partir de aminoácidos

contiguos como de aminoácidos no contiguos yuxtapuestos mediante el plegamiento terciario de una proteína. Los epítomos formados a partir de aminoácidos contiguos típicamente se retienen ante la exposición a disolventes desnaturizantes, mientras que los epítomos formados por plegamiento terciario se pierden típicamente en el tratamiento con disolventes desnaturizantes. Un epítomo típicamente incluye por lo menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o 15 aminoácidos en una conformación espacial única. Los métodos para determinar la conformación espacial de los epítomos incluyen técnicas disponibles en el arte, por ejemplo, cristalografía de rayos X y resonancia magnética nuclear bidimensional (*véase, por ejemplo, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996).*

[0064] El término "afinidad" de acuerdo con la presente se refiere a la fuerza de la interacción entre el anticuerpo y el antígeno en sitios antigénicos únicos. Dentro de cada sitio antigénico, la región variable del "brazo" del anticuerpo interactúa a través de fuerzas no covalentes débiles con el antígeno en numerosos sitios; cuantas más interacciones, más fuerte es la afinidad.

[0065] El término "anticuerpo aislado" se refiere a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigénicas. Sin embargo, un anticuerpo aislado que se une específicamente a un antígeno puede tener reactividad cruzada con otros antígenos. Por otra parte, un anticuerpo aislado puede estar sustancialmente libre de otros materiales celulares y/o químicos.

[0066] El término "secuencia de línea germinal humana correspondiente" se refiere a una secuencia de ácido nucleico que codifica una secuencia o subsecuencia de aminoácidos de la región variable humana que comparte la identidad de secuencia de aminoácidos determinada más alta con una secuencia o subsecuencia de aminoácidos de la región variable de referencia en comparación con todas las demás secuencias de aminoácidos de la región variable conocidas codificadas por las secuencias de la región variable de la inmunoglobulina de la línea germinal humana. La secuencia de línea germinal humana correspondiente también puede referirse a una secuencia o subsecuencia de aminoácidos de la región variable humana con la más alta identidad de secuencia de aminoácidos con una secuencia o subsecuencia de aminoácidos de la región variable de referencia en comparación con todas las otras secuencias de aminoácidos de la región variable evaluada. La secuencia de línea germinal humana correspondiente puede ser solo regiones marco, solo regiones determinantes complementarias, regiones determinantes marco y complementarias, un segmento variable (según se ha definido) u otras combinaciones de secuencias o subsecuencias que comprenden una región variable. La identidad de secuencia se puede determinar usando los métodos descritos en la presente,

por ejemplo, alineando dos secuencias usando BLAST, ALIGN u otro algoritmo de alineación conocido en la técnica. La secuencia de aminoácidos o ácido nucleico de la línea germinal humana correspondiente puede tener al menos aproximadamente 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% de identidad de secuencia con referencia a la secuencia de aminoácidos o ácido nucleico de la región variable. Las correspondientes secuencias de la línea germinal humana se pueden determinar, por ejemplo, a través de la base de datos internacional ImMunoGeneTics de acceso público (IMGT) (véase en Internet en www.imgt.org/) y V-base (véase en Internet en vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk).

[0067] La frase "se une específicamente" o "se une selectivamente" cuando se usa en el contexto de la descripción de la interacción entre un antígeno (por ejemplo, una proteína) y un anticuerpo, fragmento de anticuerpo, o agente de unión derivado de anticuerpo, se refiere a una reacción de unión que es determinante de la presencia del antígeno en una población heterogénea de proteínas y otros productos biológicos, por ejemplo, en una muestra biológica, por ejemplo, una muestra de sangre, suero, plasma o tejido. Así, bajo ciertas condiciones de inmunoensayo designadas, los anticuerpos o agentes de unión con una especificidad de unión particular se unen a un antígeno particular por lo menos dos veces el fondo y no se unen sustancialmente en una cantidad significativa a otros antígenos presentes en la muestra. En una forma de realización, bajo condiciones específicas, el anticuerpo o agente de unión con una especificidad de unión particular, se une a un antígeno particular al menos diez (10) veces el fondo y no se une sustancialmente en un grado significativo a otros antígenos presentes en la muestra. La unión específica a un anticuerpo o agente de unión en tales condiciones puede requerir que el anticuerpo o agente se haya seleccionado por su especificidad para una proteína particular. Según se desee o sea apropiado, esta selección se puede lograr sustrayendo los anticuerpos que reaccionan de forma cruzada con moléculas de otras especies (por ejemplo, ratón o rata) u otros subtipos. Alternativamente, en algunas formas de realización, se seleccionan anticuerpos o fragmentos de anticuerpos que reaccionan de forma cruzada con ciertas moléculas deseadas.

[0068] Se puede usar una variedad de formatos de inmunoensayo para seleccionar anticuerpos específicamente inmunorreactivos con una proteína particular. Por ejemplo, los inmunoensayos ELISA en fase sólida se usan de manera rutinaria para seleccionar anticuerpos específicamente inmunorreactivos con una proteína (véase, *por ejemplo*, Harlow & Lane, Using Antibodies, A Laboratory Manual (1998), para una descripción de los formatos y condiciones de inmunoensayo que pueden usarse para determinar la inmunoreactividad específica).

Típicamente, una reacción de unión específica o selectiva producirá una señal por lo menos el doble de la señal de fondo y más comúnmente por lo menos de 10 a 100 veces sobre el fondo.

[0069] El término “constante de disociación de equilibrio (K_D , M)” se refiere a la constante de velocidad de disociación (k_d , tiempo⁻¹) dividida por la constante de tasa de asociación (k_a , tiempo⁻¹, M⁻¹). Las constantes de disociación de equilibrio se pueden medir utilizando cualquier método conocido en la técnica. Los anticuerpos de la presente invención en general tienen una constante de disociación de equilibrio de menos de aproximadamente 10^{-7} o 10^{-8} M, por ejemplo, menos de aproximadamente 10^{-9} M o 10^{-10} M, en algunas formas de realización, menos de aproximadamente 10^{-11} M, 10^{-12} M o 10^{-13} M.

[0070] El término "biodisponibilidad" se refiere a la disponibilidad sistémica (es decir, niveles en sangre/plasma) de una cantidad dada de fármaco administrada a un paciente. La biodisponibilidad es un término absoluto que indica la medición tanto del tiempo (velocidad) como de la cantidad total (grado) del medicamento que alcanza la circulación general a partir de una forma de dosificación administrada.

[0071] De acuerdo con la presente, la frase “que consiste esencialmente de” se refiere a los géneros o especies de agentes farmacéuticos activos incluidos en un método o composición, así como todo portador o excipientes inactivos a los fines previstos de los métodos o composiciones. En algunas formas de realización, la frase “que consiste esencialmente de” excluye expresamente la inclusión de uno o más agentes activos adicionales distintos de un conjugado de anticuerpo fármaco de la invención. En algunas formas de realización, la frase “que consiste esencialmente de” excluye expresamente la inclusión de uno o más agentes activos adicionales distintos de un conjugado de anticuerpo fármaco de la invención y un segundo agente coadministrado.

[0072] El término "aminoácido" se refiere a aminoácidos naturales y sintéticos, y aminoácidos no naturales, así como a análogos de aminoácidos y miméticos de aminoácidos que funcionan de manera similar a los aminoácidos naturales. Los aminoácidos naturales son los codificados por el código genético, así como los aminoácidos que son modificados posteriormente, por ejemplo, hidroxiprolina, γ -carboxiglutamato y O-fosfoserina. Los análogos de aminoácidos se refieren a compuestos que tienen la misma estructura química básica que un aminoácido natural, es decir, un carbono α que está unido a un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo amino y un grupo R, por ejemplo, homoserina, norleucina, metionina sulfóxido, metionina metil sulfonio. Tales análogos tienen grupos R modificados (por ejemplo, norleucina) o esqueletos de péptidos modificados, pero conservan la misma estructura química básica que un aminoácido natural. Los miméticos de aminoácidos se refieren a compuestos

químicos que tienen una estructura que es diferente de la estructura química general de un aminoácido, pero que funciona de manera similar a un aminoácido natural.

[0073] El término "variante conservadoramente modificada" se aplican tanto a las secuencias de aminoácidos como a las de ácidos nucleicos. Con respecto a las secuencias particulares de ácido nucleico, las variantes modificadas conservadoramente se refieren a aquellos ácidos nucleicos que codifican secuencias de aminoácidos idénticas o esencialmente idénticas, o donde el ácido nucleico no codifica una secuencia de aminoácidos, en secuencias esencialmente idénticas. A causa de la degeneración del código genético, una gran cantidad de ácidos nucleicos funcionalmente idénticos codifican cualquier proteína dada. Por ejemplo, los codones GCA, GCC, GCG y GCU codifican el aminoácido alanina. Por lo tanto, en cada posición en la que un codón especifica una alanina, el codón se puede alterar a cualquiera de los codones correspondientes descriptos sin alterar el polipéptido codificado. Estas variaciones de ácido nucleico son "variaciones silenciosas", que son una especie de variaciones conservadoramente modificadas. Cada secuencia de ácido nucleico en la presente que codifica un polipéptido también describe cada posible variación silenciosa del ácido nucleico. El experto en la técnica reconocerá que cada codón en un ácido nucleico (excepto AUG, que normalmente es el único codón para la metionina, y TGG, que normalmente es el único codón para el triptófano) puede modificarse para producir una molécula funcionalmente idéntica. En consecuencia, cada variación silenciosa de un ácido nucleico que codifica un polipéptido está implícita en cada secuencia descripta.

[0074] En cuanto a las secuencias de polipéptidos, las "variantes conservativamente modificadas" incluyen sustituciones, deleciones o adiciones individuales a una secuencia de polipéptidos que dan como resultado la sustitución de un aminoácido por un aminoácido químicamente similar. Las tablas de sustituciones conservadoras que proporcionan aminoácidos funcionalmente similares son bien conocidas en la técnica. Dichas variantes conservadoramente modificadas son adicionales y no excluyen variantes polimórficas, homólogos entre especies y alelos de la invención. Los siguientes ocho grupos contienen aminoácidos que son sustituciones conservadoras entre sí: 1) Alanina (A), Glicina (G); 2) Ácido aspártico (D), Ácido glutámico (E); 3) Asparagina (N), Glutamina (Q); 4) Arginina (R), Lisina (K); 5) Isoleucina (I), Leucina (L), Metionina (M), Valina (V); 6) Fenilalanina (F), Tirosina (Y), Triptófano (W); 7) Serina (S), Treonina (T); y 8) Cisteína (C), Metionina (M) (véase, *por ejemplo*, Creighton, Proteins (1984)). En algunas formas de realización, el término "modificaciones de secuencia conservadoras" se utiliza para referirse a modificaciones de aminoácidos que no

afectan o alteran significativamente las características de unión del anticuerpo que contiene la secuencia de aminoácidos.

[0075] El término “optimizada” de acuerdo con la presente se refiere a una secuencia de nucleótidos que ha sido alterada para codificar una secuencia de aminoácidos usando codones que se prefieren en la célula u organismo de producción, generalmente una célula eucariota, por ejemplo, una célula de levadura, una célula de *Pichia*, una célula fúngica, una célula de *Trichoderma*, un Célula de ovario de hámster chino (CHO) o una célula humana. La secuencia de nucleótidos optimizada está diseñada para retener completamente o en la mayor medida posible la secuencia de aminoácidos originalmente codificada por la secuencia de nucleótidos inicial, que también se conoce como secuencia "parental".

[0076] Los términos "porcentualmente idéntico" o "identidad" porcentual, en el contexto de dos o más ácidos nucleicos o secuencias de polipéptidos, se refieren al grado en el que dos o más secuencias o subsecuencias son las mismas secuencias. Dos secuencias son "idénticas" si tienen la misma secuencia de aminoácidos o nucleótidos sobre la región que se compara. Dos secuencias son "sustancialmente idénticas" si dos secuencias tienen un porcentaje específico de los residuos de aminoácidos o nucleótidos que son iguales (es decir, 60% de identidad, opcionalmente 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90 %, 95%, o 99% de identidad sobre una región especificada, o, cuando no se especifica, sobre toda la secuencia), cuando se compara y se alinea para la correspondencia máxima sobre una ventana de comparación, o región designada, medida con uno de los siguientes algoritmos de comparación de secuencia o por alineación manual e inspección visual. Opcionalmente, la identidad existe sobre una región que tiene por lo menos aproximadamente 30 nucleótidos (o 10 aminoácidos) de longitud, o con mayor preferencia sobre una región que tiene 100 a 500 o 1000 o más nucleótidos (o 20, 50, 200 o más aminoácidos) de longitud.

[0077] Para la comparación de secuencias, típicamente una secuencia actúa como una secuencia de referencia, contra la cual se comparan las secuencias de prueba. Cuando se usa un algoritmo de comparación de secuencias, las secuencias de prueba y referencia se ingresan en una computadora, se designan las coordenadas de subsecuencia, de ser necesario, y se designan los parámetros del programa del algoritmo de secuencia. Se pueden usar los parámetros por omisión del programa o se pueden designar parámetros alternativos. El algoritmo de comparación de secuencias luego calcula el porcentaje de identidades de secuencia para las secuencias de prueba en relación con la secuencia de referencia, en función de los parámetros del programa.

[0078] Una “ventana de comparación,” de acuerdo con la presente, incluye referencia a un segmento de cualquiera de las posiciones contiguas seleccionadas del grupo integrado por 20 a 600, usualmente aproximadamente 50 a aproximadamente 200, más usualmente aproximadamente 100 a aproximadamente 150 donde una secuencia puede compararse con una secuencia de referencia del mismo número de posiciones contiguas una vez que las dos secuencias estén alineadas de manera óptima. Los métodos de alineación de secuencias para comparación son bien conocidos en la técnica. La alineación óptima de secuencias con fines de comparación se puede realizar, por ejemplo, mediante el algoritmo de homología local de Smith and Waterman (1970) *Adv. Appl. Math.* 2:482c (1970), mediante el algoritmo de alineación de homología de Needleman and Wunsch (1970) *J. Mol. Biol.* 48:443, mediante la búsqueda del método de similitud de Pearson and Lipman (1988) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 85:2444, mediante implementaciones computarizadas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA, y TFASTA en el Paquete de Software Wisconsin Genetics, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI), o por alineación manual e inspección visual (véase, por ejemplo, Brent *et al.*, Current Protocols in Molecular Biology, 2003).

[0079] Dos ejemplos de algoritmos que son adecuados para determinar el porcentaje de identidad de secuencia y la similitud de secuencia son los algoritmos BLAST y BLAST 2.0, descritos en Altschul *et al.* (1977) *Nuc. Acids Res.* 25:3389-3402, y Altschul *et al.* *J. Mol. Biol.* 215:403-410, 1990, respectivamente. El software para realizar análisis BLAST es público y se puede acceder al mismo a través del Centro Nacional de Información Biotecnológica. Este algoritmo implica en primer término identificar pares de secuencias de alta puntuación (HSP) mediante la identificación de palabras cortas de longitud W en la secuencia de consulta, que coinciden o satisfacen una puntuación umbral de valor positivo T cuando se alinean con una palabra de la misma longitud en una secuencia de la base de datos. T se denomina umbral de puntuación de palabras vecinas (Altschul *et al.*, Supra). Estas coincidencias iniciales de palabras vecinas actúan como semillas para iniciar búsquedas para encontrar HSP más largos que las contengan. Las coincidencias de palabras se extienden en ambas direcciones a lo largo de cada secuencia hasta que se pueda aumentar la puntuación de alineación acumulativa. Las puntuaciones acumulativas se calculan utilizando, para secuencias de nucleótidos, los parámetros M (puntuación de recompensa para un par de residuos coincidentes; siempre > 0) y N (puntuación de penalización para residuos que no coinciden; siempre < 0). Para las secuencias de aminoácidos, se usa una matriz de puntuación para calcular la puntuación acumulativa. La extensión de las coincidencias de palabras en cada dirección se detiene cuando: la puntuación de alineación acumulativa cae por la cantidad X de su valor máximo

alcanzado; la puntuación acumulativa va a cero o menos, debido a la acumulación de uno o más alineamientos de residuos con puntuación negativa; o se alcanza el final de cualquiera de las secuencias. Los parámetros del algoritmo BLAST W, T y X determinan la sensibilidad y la velocidad de la alineación. El programa BLASTN (para secuencias de nucleótidos) utiliza por defecto una longitud de palabra (W) de 11, una expectativa (E) de 10, M=5, N=-4 y una comparación de ambas cadenas. Para las secuencias de aminoácidos, el programa BLASTP usa por defecto una longitud de palabra de 3 y una expectativa (E) de 10, y la matriz de puntuación BLOSUM62 (véase Henikoff and Henikoff (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 10915) alineaciones (B) de 50, expectativa (E) de 10, M=5, N=-4, y una comparación de ambas cadenas.

[0080] El algoritmo BLAST también realiza un análisis estadístico de la similitud entre dos secuencias (véase, *por ejemplo*, Karlin and Altschul, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5787, 1993). Una medida de la similitud proporcionada por el algoritmo BLAST es la probabilidad de suma más pequeña (P (N)), que provee una indicación de la probabilidad de que se produzca una coincidencia entre dos secuencias de nucleótidos o aminoácidos por casualidad. Por ejemplo, un ácido nucleico se considera similar a una secuencia de referencia si la probabilidad de suma más pequeña en una comparación del ácido nucleico de prueba con el ácido nucleico de referencia es de menos de aproximadamente 0,2, con mayor preferencia menos de aproximadamente 0,01, y con aún mayor preferencia menos de aproximadamente 0,001.

[0081] El porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos también se puede determinar usando el algoritmo de E. Meyers and W. Miller, *Comput. Appl. Biosci.* 4: 11-17 (1988) que se ha incorporado al programa ALIGN (versión 2.0), utilizando una tabla de residuos de peso PAM120, una penalización de longitud de hueco de 12 y una penalización de hueco de 4. Además, el porcentaje de identidad entre dos aminoácidos las secuencias se pueden determinar usando el algoritmo de Needleman and Wunsch, *J. Mol. Biol.* 48: 444-453 (1970) que se ha incorporado al programa GAP en el paquete de software GCG (disponible en www.gcg.com), utilizando una matriz BLOSUM62 o una matriz PAM250, y un peso de hueco de 16, 14, 12, 10, 8, 6, o 4 y un peso de longitud de 1, 2, 3, 4, 5, o 6.

[0082] Además del porcentaje de identidad de secuencia señalado anteriormente, otra indicación de que dos secuencias de ácido nucleico o polipéptidos son sustancialmente idénticas es que el polipéptido codificado por el primer ácido nucleico es reactivo inmunológicamente de forma cruzada con los anticuerpos generados contra el polipéptido codificado por el segundo ácido nucleico, según se describe a continuación. Por lo tanto, un

polipéptido es típicamente sustancialmente idéntico a un segundo polipéptido, por ejemplo, donde los dos péptidos difieren solo por sustituciones conservadoras. Otra indicación de que dos secuencias de ácido nucleico son sustancialmente idénticas es que las dos moléculas o sus complementos se hibridan entre sí en condiciones astringentes, conforme se describe a continuación. Otra indicación más de que dos secuencias de ácido nucleico son sustancialmente idénticas es que pueden usarse los mismos cebadores para amplificar la secuencia.

[0083] El término "ácido nucleico" se usa en la presente de manera indistinta con el término "polinucleótido" y se refiere a desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos y sus polímeros en forma monocatenaria o bicatenaria. El término abarca ácidos nucleicos que contienen análogos de nucleótidos conocidos o residuos o enlaces de esqueleto modificado, que son sintéticos, naturales y no naturales, que tienen propiedades de unión similares al ácido nucleico de referencia, y que se metabolizan de manera similar a los nucleótidos de referencia. Los ejemplos de tales análogos incluyen, sin limitación, fosforotioatos, fosforamidatos, metilfosfonatos, quiral-metilfosfonatos, 2-O-metil ribonucleótidos, ácidos péptido-nucleicos (PNAs).

[0084] Salvo indicación en contrario, una secuencia de ácido nucleico en particular también abarca implícitamente variantes modificadas conservadoramente de la misma (por ejemplo, sustituciones de codones degenerados) y secuencias complementarias, así como la secuencia indicada explícitamente. Específicamente, según se expone a continuación, las sustituciones de codones degenerados pueden lograrse generando secuencias en las que la tercera posición de uno o más codones seleccionados (o todos) es sustituida por residuos de base mixta y/o desoxiinosina (Batzer *et al.*, (1991) *Nucleic Acid Res.* 19:5081; Ohtsuka *et al.*, (1985) *J. Biol. Chem.* 260:2605-2608; y Rossolini *et al.*, (1994) *Mol. Cell. Probes* 8:91-98).

[0085] El término "operativamente unido" en el contexto de los ácidos nucleicos se refiere a una relación funcional entre dos o más segmentos de polinucleótidos (por ejemplo, ADN). Típicamente, se refiere a la relación funcional de una secuencia reguladora transcripcional con una secuencia transcripta. Por ejemplo, una secuencia promotora o potenciadora está operativamente unida a una secuencia codificante si estimula o modula la transcripción de la secuencia codificante en una célula huésped apropiada u otro sistema de expresión. En general, las secuencias reguladoras transcripcionales promotoras que están operativamente unidas a una secuencia transcripta están físicamente contiguas a la secuencia transcripta, es decir, actúan en cis. Sin embargo, algunas secuencias reguladoras de la

transcripción, como los potenciadores, no necesitan estar físicamente contiguas o ubicadas cerca de las secuencias de codificación cuya transcripción mejoran.

[0086] Los términos "polipéptido" y "proteína" se usan indistintamente en la presente para referirse a un polímero de residuos de aminoácidos. Los términos se aplican a los polímeros de aminoácidos en los que uno o más residuos de aminoácidos es un mimético químico artificial de un aminoácido natural correspondiente, así como a los polímeros de aminoácidos naturales y a los polímeros de aminoácidos no naturales. Salvo indicación en contrario, una secuencia de polipéptidos en particular también abarca implícitamente variantes conservadoramente modificadas de la misma.

[0087] El término "conjugado de anticuerpo fármaco" o "inmunoconjugado" de acuerdo con la presente se refiere al enlace de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo con otro agente, como un agente quimioterapéutico, una toxina, un agente inmunoterapéutico, una sonda de imagen y similares. El enlace puede estar constituido por enlaces covalentes o interacciones no covalentes, como a través de fuerzas electrostáticas. Se pueden emplear varios enlazadores, conocidos en la técnica, para formar el conjugado de anticuerpo fármaco. Además, el conjugado de anticuerpo fármaco puede proporcionarse en la forma de una proteína de fusión que puede expresarse a partir de un polinucleótido que codifica el inmunoconjugado. De acuerdo con la presente, "proteína de fusión" se refiere a proteínas creadas a través de la unión de dos o más genes o fragmentos de genes que originalmente codificaron proteínas separadas (incluidos péptidos y polipéptidos). La traducción del gen de fusión da como resultado una única proteína con propiedades funcionales derivadas de cada una de las proteínas originales.

[0088] El término "sujeto" incluye animales humanos y no humanos. Los animales no humanos incluyen todos los vertebrados, por ejemplo, mamíferos y no mamíferos, como primates no humanos, ovejas, perros, vacas, pollos, anfibios y reptiles. Excepto cuando se indique, los términos "paciente" o "sujeto" en la presente se usan indistintamente.

[0089] El término "citotoxina", o "agente citotóxico" de acuerdo con la presente, se refiere a cualquier agente que sea perjudicial para el crecimiento y la proliferación de las células y pueda actuar para reducir, inhibir o destruir una célula o malignidad.

[0090] El término "agente anticancerígeno" del acuerdo con el presente se refiere a cualquier agente que pueda usarse para tratar o prevenir un trastorno proliferativo celular como el cáncer, que incluye pero no se limita a, agentes citotóxicos, agentes quimioterapéuticos, radioterapia y agentes radioterapéuticos, agentes anticancerígenos dirigidos y agentes inmunoterapéuticos.

[0091] El término "resto de fármaco" o "carga útil" de acuerdo con la presente se refiere a una fracción química que se conjuga con un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de la invención, y puede incluir cualquier agente terapéutico o de diagnóstico, por ejemplo, un agente anticancerígeno, antiinflamatorio, antiinfeccioso (por ejemplo, antifúngico, antibacteriano, antiparasitario, antivírico) o anestésico. Por ejemplo, el resto de fármaco puede ser un agente anticancerígeno, como una citotoxina. En ciertas formas de realización, un resto de fármaco es un compuesto inhibidor diana. Además, una carga útil puede ser una sonda biofísica, un fluoróforo, una etiqueta espín, una sonda infrarroja, una sonda de afinidad, un quelante, una sonda espectroscópica, una sonda radioactiva, una molécula lipídica, un polietilen glicol, un polímero, una etiqueta espín, ADN, ARN, una proteína, un péptido, una superficie, un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, una nanopartícula, un punto cuántico, un liposoma, una partícula de PLGA, un sacárido o un polisacárido.

[0092] En algunas formas de realización, el resto de fármaco o carga útil es un inhibidor de GNAQ, un inhibidor de GNA11 o un inhibidor de GNAQ y GNA11 (inhibidor de GNAQ/GNA11). En algunas formas de realización, un inhibidor de GNAQ/11 es una molécula que inhibe la producción de IP3 mediada por GNAQ/11 y/o exhibe un efecto antiproliferativo de respuesta a la dosis en células dependientes de la señalización de GNAQ/11 (es decir, células de melanoma uveal GNAQ/11 mutantes). En algunas formas de realización, un inhibidor de GNAQ/11 es un compuesto que estabiliza GNAQ/11 en el estado de unión a GDP inactivo e impide la liberación de GDP, o se une al estado de unión a GDP activo e impide la interacción de GNAQ/11 con los efectores corriente abajo. En algunas formas de realización, un inhibidor de GNAQ/11 funciona inhibiendo un GNAQ y/o GNA11 mutante, como aquél que comprende una mutación Q209L/P. Los métodos para unir tales restos de fármaco a un enlazador compatible con el resto de direccionamiento se brindan en la presente descripción, junto con los métodos conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Singh et al., (2009) *Therapeutic Antibodies: Methods and Protocols*, vol. 525, 445-457.

[0093] GNAQ (subunidad alfa de la proteína G de unión a nucleótidos de guanina G(q), también conocida como CMC1, G-ALPHA-q, GAQ, SWS, y subunidad alfa de la proteína G q) y GNA11 (subunidad alfa 11 de la proteína de unión a nucleótidos de guanina, también conocida como FBH, FBH2, FHH2, GNA-11, HHC2, HYPOC2, y subunidad alfa 11 de la proteína G) son GTPasas estrechamente relacionadas que constituyen subunidades α de proteínas G heterotriméricas que actúan corriente abajo de los receptores acoplados a la proteína G (GPCR). Las subunidades α actúan como un interruptor para la activación de las proteínas G al intercambiar el difosfato de guanosina (GDP) por el trifosfato de guanosina (GTP), lo que lleva

a la activación de distintos efectores corriente abajo. La activación es terminada por la actividad intrínseca de la GTPasa, ya que la GTP se hidroliza a GDP (Van Raamsdonk et al., 2010, N Engl J Med.; 363(23):2191-9). La activación clásica de la cascada de proteínas Gq se produce a través de la fosfolipasa C- β (PLC- β), que hidroliza la fosfolipasa fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato para liberar dos segundos mensajeros potentes: D-mioinositol 1,4,5-trifosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG). Tras el aumento transitorio del Ca^{2+} intracelular, IP3 se transforma rápidamente en IP2, IP1, y mioinositol. Por otra parte, DAG activa la proteína quinasa C (PKC), lo que conduce a una cascada de fosforilación de RAF, MEK y ERK, que se transloca al núcleo para regular la proliferación y supervivencia celular. (Krantz et al., 2017, Clin Ophthalmol.; 11:279-289).

[0094] Las secuencias de ácidos nucleicos y aminoácidos de GNAQ humana están publicadas en GenBank con los siguientes Números de Acceso:

[0095] NP_002063 (SEQ ID NO: 268)

```
1 mtlesimacc lseeakearr indeierqlr rdkrdarrel klillgtges gkstfikqmr
61 iihgsgysde dkrqftklvy qniftamqam iramdtlkip ykyehnkaha qlvrevdvek
121 vsafenpyvd aikslwndpg iqecydrre yqlsdskyy lndldrvadp aylptqqdvl
181 rrvrpttgii eypfdlqsvi frmvdvvggqr serrkwihcf envtsimflv alseydqlv
241 esdnenrmee skalfrtiit ypwfqnssvi lflnkdille ekimyslhvd yfpeydgppqr
301 daqaarefil kmfvdlnpds dkiiyshftc atdtenirfv faavkdtilq lnlkeynlv
```

[0096] NM_002072 (SEQ ID NO: 269)

```
1 agactatccg ctcccaccgc gcccccgccc cacctggtgg ccccgccctt ggccgcccgc
61 cccgcggcgg ttcccggagc tcgtcccgga cgcgcgcccg ggcggcgggg gctcggcggc
121 caccgtgcc tcgggggagc gagggcgggg ggggtgtgtg gcgcgctgtg agcagggggg
181 gccggcgggg ctgcagcggg ggcactttgg aagaatgact ctggagtcca tcatggcgtg
241 ctgcctgagc gaggaggcca aggaagcccg gcggatcaac gacgagatcg agcggcagct
301 ccgcagggac aagcgggacg cccgccggga gctcaagctg ctgctgctcg ggacaggaga
361 gagtggcaag agtacgttta tcaagcagat gagaatcatc catgggtcag gatactctga
421 tgaagataaa aggggcttca ccaagctggt gtatcagaac atcttcacgg ccatgcaggc
481 catgatcaga gccatggaca cactcaagat cccatacaag tatgagcaca ataaggctca
541 tgcacaatta gtcgagaag ttgatgtgga gaaggtgtct gcttttgaga atccatatgt
601 agatgaata aagagttat ggaatgatcc tggaatccag gaatgctatg atagacgacg
661 agaatacaa ttatctgact ctacaaata ctatctaat gacttgacc gcgtagctga
721 cctgcctac ctgcctacgc aacaagatgt gcttagagtt cgagtcccca ccacagggat
781 catcgaatac cctttgact taaaagtgt catttcaga atggtcgatg tagggggcca
841 aaggtcagag agaagaaaat ggatacactg cttgaaaat gtcacctcta tcatgtttct
901 agtagcgctt agtgaatatg atcaagtctt cgtggagtca gacaatgaga accgaatgga
961 ggaaagcaag gctctcttta gaacaattat cacatacccc tgggtccaga actcctcggt
1021 tattctgttc ttaaacaaga aagatcttct agaggagaaa atcatgtatt cccatctagt
1081 cgactacttc ccagaatatg atggacccca gagagatgcc caggcagccc gagaattcat
1141 tctgaagatg ttcgtggacc tgaaccaga cagtgcacaa attatctact cccacttcac
1201 gtgcgccaca gacaccgaga atatccgctt tgtctttgct gccgtcaagg acaccatcct
```

1261 ccagttgaac ctgaaggagt acaatctggt ctaattgtgc ctctagaca cccgccctgc
1321 ccttccctgg tgggctattg aagatacaca agagggactg tatttctgtg gaaaacaatt
1381 tgcataatac taattattg cgtcctgga ctctgtgtga gcggtccac agagtttga
1441 gtaaatatta tgaattatt taaactattc agaggaaaaa cagaggatgc tgaagtacag
1501 tcccagcaca ttctctct atctttttt taggcaaaac ctgtgactc agtgatttt
1561 aaattctcag tcatgcactc acaaagataa gactgtttc ttctgtctc tctctttt
1621 tctttctat ggagcaaaac aaagctgatt tccctttt cttccccgc taattcatac
1681 ccccctctg atgttttcc cagggtacaa tggcctttat cctagttcca ttctgggtca
1741 agttttctc tcaaatgata cagtcaggac acatcggtcg atttaagcca tcatcagctt
1801 aatttaagt ttagttttt gctgaaggat tatatgtatt aatacttacg gtttaaatg
1861 tgttgcttg gatacacaca tagtttctt ttaatagaa tatactgtct tgtctcactt
1921 tggactggga cagtggatgc ccatcaaaa gttaagtgtc atttcttta gatgtttacc
1981 tcagccata gcttgattgc tcagagaaat atgcagaagg caggatcaaa gacacacagg
2041 agtcctttt ttgaaatgc cacgtgccat tgtcttct ccttcttg cttctttt
2101 ttaccctctc ttcaattgc agatgcaaaa aaagatgcca acagacacta cattacccta
2161 atggctgcta ccagaacct ttataggt ttttctaatt tttttgtg ttgtgttca
2221 agctttctc ttcttttt tcttggtgt tgggccacga ttttaaatg actttatta
2281 tgggtatgtg ttgcaaaagc tggcttttg tcaataaaaa tgaatacgaa cttaaaaaat
2341 aaaagctggt atcttaaaat gtaagagagt aagactgtga agcctaaaat gactggctga
2401 gaatgaacca gaaatgcat ttgcaaaaca gttgtaacta gaaattgat tctcaggtc
2461 cattctttt ttgtcctta agatgacatt gtagtggtc acgtcccatg ttcagtgctc
2521 aaaccggcaa tgtaaaaagt atcctgtgtg gtttaacagg aaatctgtt atgtctctt
2581 attgaaacc agtttactc tcagtgggtc ttaagtca atgaagtctg ccaggacat
2641 tgggtggtg tattattccg acacctttaa ttccaaaat ctgaagtcc tgcagtta
2701 ccacctcat gatctctg aactggtaac tgattaggt gaactatgg aagatttgt
2761 gacttaactc aaaagtaacc tctcagtgt ctatagaaca tgaattgtg taactgaacc
2821 taccaggaga aatgtttgga attctatatg tgcaatttt caacaaatgc aaaaaaata
2881 cagcacatgt attgacaagc ttctgtcaag cagctgagt tgaatttga ttaagaaaa
2941 taaatcatga ttgtcaaag ctgctgggac gtagaatta ggcatgata ctggtctcat
3001 ttaactaca gtggtattg gactagtg aaactccat ataatcact ctttggaa
3061 aacaaagggg gagggagaaa aatcacggc tgttaaatga gtacaaagc cgccaacag
3121 taatgagatg ttctatcct tgattctcc agcctcaaac aacacagctt actttttt
3181 tccctgtctc agaaagtacc tgaatttaa caaacagact gcctgtaggt atagtgaat
3241 tacaatgct ctaatcattg tacatacatc tctctgata ttgcagcatc catactggct
3301 ttgtaatcat taatttttg gcagattgaa tgtgctgtat tgatatgtat ctatgaatt
3361 gtattgatg tctatagcta atcacgtt tgaataatg tattttatt actttttta
3421 gagaggagaa tgtaaatgt tcagtatt tctgactagg gatattttt ttccatttag
3481 aaaagaagaa aaaaaaaaaa cttactgtc atacagagcg gtactagcgt cgtgctgtat
3541 aaaatcatt gcacattcct gagtagaggt atactgatta taagaccaa aggtaattc
3601 atagcaaaat acataaaatc agtcggagct ttatacaaa catggaaacc aactttag
3661 aactttgcc attgatcta ggattggaat atgagcttt atacaattca tattctatt
3721 tggcaaatgc acagtttagt attacctctc tgatggcctt tactagaaag gcagtttag
3781 aagctattgt gatccactaa ggaaatgtt taacagctag agaccactgc ttgcctgaaa
3841 gggcgttct aaatttggtg cagcaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa ttaacaaca
3901 acatttgaag gcctacagt tgtatagaga aaacctcatc acaagatcat aagtgtaca
3961 gtttaggga atcaagatat tctattaat agagctatag taaatgtagt caattaaacc
4021 tgatctcaa gctgaagaa gctgagcaaa acagggaag attgtatat ttgtcttat
4081 gaaattggga tgaatttgc tatgcagaat tgaggttgt ggctcgctg ttctgtagg
4141 gtgcatgaca agatccctc tcttagaaaa ggaaaaaatt gatcaccta gcagcagtg
4201 tgcatagaaa ctaatttta gccacaccag tcaatcgaag ctaaaggatt ttcttttg
4261 ttcttcggg gtttattga aggggctagg ggcgggacgg gattctttc agtttgtat

4321 aaaacaaag ttactcatg ctttatatta tattgtgatt gcaagcgtta taagcgtgtg
 4381 ccactggcct cctattgttg atgcttaggt aatggaggcc tgtggtgagt ttatggtga
 4441 ctgggcatg tcttattcaa aaacaaaaac ataaaacaca gaaaccttc tcagcatac
 4501 caaggcaagc agccatttca tgactcactt aacacattgc agtgaccag ttacagatg
 4561 attttcctt tttgctga catggcagtt ctaacccca gagaattcct tattgtaaa
 4621 ttggaagttt ctactatgcc ttacagagct taaattcaga agtttgccc tcatatctga
 4681 aacaaagga aataacacac ccattcaaaa gtaaataaat ctctagaag ttttgttt
 4741 taacatttcc atataaagag ctctgttgaa tgtcatgaat agactggaaa aaaaaattt
 4801 aagaacctgc atatgtgtt tactagcaga tgacaactac aaaaggaatc tgaagaacac
 4861 gtaaaacttg tttttttt ttttggtag attaactagc aggcctattt taaaaagga
 4921 attcagctaa agggcaattt actttttgt actcagact atcttgattg tcaaagtga
 4981 cgaactgtaa tttaaaatt tatactgcc catgattgta aatttagtt gtcttaagt
 5041 aggaattggt gaaaagctat ttatgctgga ttgggtcaa atgacttat ttgcaaaaaa
 5101 ataaataatg ggaagaaagg gctgtataat gaaatactgc aagactcaca tattggttg
 5161 aaatttcctt caaatcacct accgattacc ctgatttcc cttgtttc agtttctca
 5221 aacgaatgaa atgaaatata gcagaatgtt aacctatata aaaataaagt gtacccaaat
 5281 attgtaatgt atattgctgc tcttctcaa attaaataag ggtttaaac cacttaattg
 5341 gtaatcaaca tctcaattga tacaataag gtgtgcttg tatacattaa ttttcttc
 5401 caaagatata ttttggtta gaaacacaaa aaaataaaac tagtaatatt gtatgttat
 5461 ctatctctac atattccag catatgtagc gttaatagat ctgtcctggt aactgtgtt
 5521 ttgggatttc attttggtc catcaaatta ggaaaagaaa tggcttagtt gtatatgatt
 5581 agctagagat tttggagcc agacacctgc tgttagtag ataactagt acagacccta
 5641 aactgtcat ttgtttctt cacagaatag ccatttctg ctgtctccc aatgatcact
 5701 gcccttcaa taacactctt gccttagaa tcatatgtc aaagtatgaa tacacaccta
 5761 gcacatagta ggtgctcaa tattaattc ctctgcct tcctatcta ccctgtgtc
 5821 tccatttccc cgtatgatt caaccaata tagcaaatga catttacatg ttatgaaaac
 5881 atctattggg taaaatcaga tcttgataa agaaattctg actttatat aagcttttg
 5941 tagacagaaa aaacagaaag gtattcgtg gtagaacatt ttaagttca ggaaagaaag
 6001 ctggaataat actacgtaac tttgtccagg ttacttgac tgaaacacgt tttggtgga
 6061 ttttttcc tcaagaact ctctaatgc aactcctgc tggattcctc acctatcat
 6121 ctgttgaaa ccctactag acctatgtat ttagggagt ttgtcagaaa acattttta
 6181 ctgcagtat taaaagaat atttactgtt cctaaaatgt cattcaaatg catgtactgt
 6241 ctattgttg ggtatgggaa ctagtgtgc aaaaaacacc taatgtgta taataatgcc
 6301 ccaatgatct tgctggttaa aaatacagta ttttgcca taa

[0097] La secuencia de ácidos nucleicos y aminoácidos de GNA11 humana están publicadas en GenBank con los siguientes Números de Acceso::

[0098] NP_002058 (SEQ ID NO: 270)

1 mtlesmmacc lsdevkeskr inaeiekqlr rdkrdarrel klillgtges gkstfikqmr
 61 iihgagysee dkrgftklvy qniftamqam irametkil ykyeqnkana llirevdvek
 121 vttfehqvys aiktlwedpg iqecydrre yqlsdsakyy ltdvdriatl gylptqqdvl
 181 rrvpttgii eypfdlenii frmvdvggqr serrkwiwhf envtsimflv alseydqlv
 241 esdnenrmee skalfrtiit ypwfqnssvi flnkkdlle dkilyshlvd yfpefdgppr
 301 daqaarefil kmfvdlnpds dkiiyshftc atdenirfv faavkdtilq lnkeynlv

[0099] NM_002067 (SEQ ID NO: 271)

1 aggttgctcg gcgctgtcgc tcggttcgcg cggttcggtg tggcggtggc tgcggcggcg
61 gcgcggtgct agtcggtccg cgcggtgagc cgcggtggc gcggcccgag cggggacccg
121 gcggtcgcg aggcggcggc cgaggtggg cgggccggcc cggggccgag ggccggtggc
181 cgaggtccga gggccgcggc gggcggtggc cgaggtggc ccggccaggg ccgggcccgg
241 ggccgggggg cggcggcggg caggcggtcg cgtcggtggg ggccgggacg atgactctg
301 agtccatgat ggcgtgttc ctgagcgatg aggtgaagga gtccaagcg atcaacgccg
361 agatcgagaa gcagctgcg cggaacaag gcgacgccc gcgagctc aagctgtgc
421 tgctcgacac gggcgagagc gggaagagca cgttcacaa gcagatcgc atcatccag
481 gcgcccgtc ctggtggag gacaagcgg gcttcacaa gctcgtctc cagaacatc
541 tcaccgcat gcaggtcatg atccgggcca tggagacgt caagatctc tacaagtacg
601 agcagaacaa ggccaatcg ctctgatcc gggaggtgga cgtggagaag gtgaccacct
661 tcgagcatca gtacgtcag gccatcaaga ccctgtggg ggacccggg atccaggaat
721 gctacgaccg caggcgagc taccagctc ccgactctc caagtactc ctgaccgagc
781 ttgaccgat cgccacctg ggctacctc ccaccagca ggacgtgtg cgggtccgcg
841 tgccaccac cggcatcatc gactacctc tcgacctga gaacatcat tccggatgg
901 tggatgtgg gggccagcg tcggagcga ggaagtggat cactgctt gagaacgtga
961 catccatcat gtttctgc gccctcagc aatacgacca agtctggtg gactcggaca
1021 acgagaaccg gatggaggag agcaagccc tgtccggac catcatcacc taccctgtg
1081 tcagaactc ctccgtcat ctctctca acaagaagga cctgtggag gacaagatc
1141 tgtactcga cctgtggag tacttcccc agttcgatg tcccagcg gacgccagc
1201 cggcgcgga gttcatctg aagatgttc tggacctga ccccgacag gacaagatc
1261 tctactaca ctacgtgt gccaccgca cggagaacat ccgctcgtg ttcggtggc
1321 tgaaggacac catctgcag ctcaacctc agagtacaa cctggtctg gcgccaggc
1381 ccaggagac gggatggaga caggggagc gacctctc ccacggagc tgcggtgac
1441 gggcggtg cgctccgag tccgggccc ggctctgc cgcgggagga gatttttt
1501 tttcatatt ttaacaaatg gttttatt cacagtatc agggatgta catctctcc
1561 tccgtacct tcgcacac tctacctt tgtcaacgg aaaggcagc ttttctggc
1621 ctgacttat ggctcgctt ttctaaaaa aaaaaaaaaa agaaagaaag aaaaaagca
1681 acgaaacata aaacacacaa gcgccccgt ccccgagga ctctgggct cacagagccc
1741 ccggcagcca gcatggggc ccgcccgtc gccagtcag cggcccccaca ccgagcccc
1801 ccgtggtgt cctccaacc ccaggtgtt tttctctc ctgcccgtt cttttctca
1861 tcacaaaagg cgtggagact cggagacga cgttttcc ctttttaag ttattgacg
1921 ccagcgccc tcgctctc acctatcaac gctgtgctt gccactgga ctctgaaga
1981 ggggtggg ggctccctc gtcgccacc ctgggaagt ctaacctt tttttatt
2041 tttttttg agaaaaaga acgctgact cacaggtga agaaacacc tggccctct
2101 ctcatggcg ggtccccg cctctgcag aggtgggaa ggtccccg gctggagca
2161 cgggggctc tctgggtgt gctccggg ccaactggt ctgctggg ctgccggg
2221 actccagag gctgcacgg caccctgcc tggtagagc gcacccacc ggagccacg
2281 tgggtggg ggctggagg atgtcccc ggtgacact ggagaaagg cacttggatg
2341 gggcggtt tgtttgtc cgcttgtg tgtaccaat ttgaaacag cgaggtggg
2401 tgggactt tacagaata tctcaggtg gtaccgaga ggcagagga gggacgtgg
2461 cggcagctc gtgcgtggc ttgtccaa cacttgcgc cgccccgag cgccgcccc
2521 ggggagcgg aagccagac tcgacttg gccagggcg cgtggaagg ggtggcagg
2581 accggcctg gcagctcca ggctggct gccacgaca cggccgagg gggagcccc
2641 caggccacg cgcactgag cacagcccc ggggcccct cccggggcc ctgaggcac
2701 tgaggcacg agactggtc tcccagag actcgaagg tggggaacga gggactgtg
2761 ttggggagg tggctttt gtctgtgt gactgaacac tacagcgcc tgtgttccg
2821 ggctcgcac agctgtcca gggatggat gcctgtgt cctcggcc cgccacacc
2881 gggacctgc acggctgt ctggcctga catatgaca aagaacagc cccaaaatac
2941 gaccactca accagcagt cccgctgc tggccgac tgcaggcct gccctggct

3001 cctcgtccgc agggctgtct gctggcttct gggggcagaa gagcggggag ccccgaggaa
 3061 gggtcagggg agaccaggtc agggcagcta catttctgt gatcagcccc atggggagac
 3121 ggggctggcg ggatacccc ccccggtt cccacacca cttctgtct acccggaagc
 3181 gtccttttt tgtgccaggt gtctacctaa gaggggtgt gccagaagcc ccccatggcg
 3241 agtgcgggg cccggcggg ccctggggga gcagatggg caccctgg cagggccgct
 3301 acaaccttt ccagcagcg agccctctgg ggggctgtg cttgtggcat ctctgagggc
 3361 ctgattgca caaggtgacc tggcgtggc ctgaggggtg agtcgccag cacgcaggcc
 3421 ggggcgctgc ggggctaagt attaggcctt ccagggagg gggcgtgcca agcatcccag
 3481 agccgggctg ggaccgcaa aacgtcgtg cctggatcct ctgggtctga gtgcctgac
 3541 ccctgcccc caaaaaagca gaggtagggt ttgcaggccc agggcagggg tgctgcccc
 3601 aggagagtc caggcagtg ttctcgtgc agtggcacc aggggcaagg acagccaacc
 3661 cccaccctg ccacgtgtg ggccacgtg gcatgtggg tgtgtgttt tacctgtgtg
 3721 aatctcacct gccaacgatt tctcgtgagt gccgaccacc ttctccgacc atgttacgcc
 3781 cgggcggcag cagcccccg cactgcaaa ccatgccct gggcccccg gtcccccag
 3841 ggagggatcc ccgtgccaat gtccccagt ggtggcagca gatcctgtg cggcctggc
 3901 ggacgggacc cagtgatact tgtatattac acagtctga ttcagacaa ttcaacctt
 3961 aatctatta aaaaagaata ttctataca gctgtttta agcctttac cattgaaat
 4021 gcatgtgtg tgcgcgttg ggtgggagg aggggctgag gagcggctca gtgtcacctc
 4081 ccacagccac cggcctgac cttaatcca gacaccgat gaagtcgact ttcatatct
 4141 ttctctgaa atgaactctg ttttaaattg gaataaattt tgctcctaaa

[00100] “Tumor” se refiere al crecimiento y proliferación de células neoplásicas, ya sean malignas o benignas, y a todas las células y tejidos precancerosos y cancerosos.

[00101] El término "actividad antitumoral" hace referencia a una reducción en la tasa de proliferación de células tumorales, viabilidad o actividad metastásica. Por ejemplo, la actividad antitumoral puede demostrarse a través de una disminución en la tasa de crecimiento de células anormales que surge durante la terapia o la estabilidad o reducción del tamaño del tumor, o una mayor supervivencia debido a la terapia en comparación con el control sin terapia. Dicha actividad se puede evaluar utilizando modelos tumorales in vitro o in vivo aceptados, que incluyen pero no se limitan a modelos de xenoinjerto, modelos de aloinjerto, modelos MMTV y otros modelos conocidos disponibles en la técnica para investigar la actividad antitumoral.

[00102] El término "malignidad" se refiere a un tumor no benigno o un cáncer. De acuerdo con la presente, el término "cáncer" incluye una neoplasia maligna caracterizada por un crecimiento celular desregulado o descontrolado. Los ejemplos de cánceres incluyen: carcinomas, sarcomas, leucemias y linfomas.

[00103] El término “cáncer” incluye tumores malignos primarios (por ejemplo, aquellos cuyas células no han migrado a sitios en el cuerpo del sujeto que no sean el sitio del tumor original) y tumores malignos secundarios (por ejemplo, los que surgen de metástasis, la migración de células tumorales a sitios secundarios que son diferentes del sitio del tumor original).

[00104] El término “PMEL17” (también indicado como proteína premelanosoma (PMEL), D12S53E, ME20, ME20-M, ME20M, P1, P100, gp100, SI, SIL, y el homólogo de la proteína locus de plata (SILV) se refiere a una proteína transmembrana Tipo I de un solo pase producida por los melanocitos e implicada en la síntesis de melanina. La secuencia de ácidos nucleicos y aminoácidos de PMEL17 humana están publicadas en GenBank con los siguientes Números de Acceso: NP_008859, NP_001307050, NP_001307051, NP_001186982, NP_001186983 (secuencias de aminoácidos), y NM_006928, NM_001200053, NM_001200054, NM_001320121, NM_001320122 (secuencias de nucleótidos). De acuerdo con la presente, el término “PMEL17” se usa para referirse colectivamente a todas las isoformas naturales de la proteína PMEL17, o una variante de la misma.

[00105] NP_008859 (SEQ ID NO: 272)

```
1 mdlvlkrcll hlavigalla vgakvprnq dwlgvsrqlr tkawnrqlyp ewteaqrldc
61 wrggqvslkv sndgptliga nasfsialnf pgsqkvlpdg qviwvntii ngsqvwggqp
121 vvpqetddac ifpdggpcps gswsqkrsfv yvwktwgqyw qvlggpvsgl sigtgramlg
181 thtmevtvyh rrgsrsyvpl ahsssaftit dvpfsvsvs qlraldggkn hflrnqpltf
241 alqlhdpsgy laeadlsytw dfgdssgtli sralvthty lepgpvtaqv vlqaaipits
301 cgssvpvgtt dghrptaeap ntagqvptt evvgtpgga ptaepsgts vqvpttevis
361 tapvqmptae stgmtpekv vsevmttla emstpeatgm tpaevsivl sgtaaavtt
421 tewvettare lpipepegpd assimtesi tsglplldg tatrlvrqrp vpldcvlyry
481 gsfsvtldiv qgiesaeilq avpsgegdaft eltvscqggp pkeacmeiss pgcqpaaql
541 cqpvlpspac qlvlhqilkg gsgtyclnvs ladtnslavv stqlimpgge aglgqvpliv
601 gillvlmavv lasliyrrrl mkqdfsvpql phssshwrlr prifcscpig enspllsgqq
661 v
```

[00106] NP_001307050 (SEQ ID NO: 273)

```
1 mdlvlkrcll hlavigalla vgakvprnq dwlgvsrqlr tkawnrqlyp ewteaqrldc
61 wrggqvslkv sndgptliga nasfsialnf pgsqkvlpdg qviwvntii ngsqvwggqp
121 vvpqetddac ifpdggpcps gswsqkrsfv yvwktwgqyw qvlggpvsgl sigtgramlg
181 thtmevtvyh rrgsrsyvpl ahsssaftit dvpfsvsvs qlraldggkn hflrnqpltf
241 alqlhdpsgy laeadlsytw dfgdssgtli sralvthty lepgpvtaqv vlqaaipits
301 cgssvpvgtt dghrptaeap ntagqvptt evvgtpgga ptaepsgts vqvpttevis
361 tapvqmptae staaqvtte wvettarelp ipepegpdas simstesitg slgplldgta
421 tlrivkrqrp ldcvlyrygs fsvtldivqg iesaeilqav psgegdaft eltvscqggp
481 eacmeisspg cqpaaqlcqv pvlpspacql vlhqilkgg gtyclnvs la dtnslavvst
541 qlimpvpgil ltgqeaglgq vplivgillv lmavvlasli yrrlmkqdf svpqlphsss
601 hwrlprifc scpigenspl lsgqqv
```

[00107] NP_001307051 (SEQ ID NO: 274)

```
1 mdlvlkrcll hlavigalla vgakvprnq dwlgvsrqlr tkawnrqlyp ewteaqrldc
61 wrggqvslkv sndgptliga nasfsialnf pgsqkvlpdg qviwvntii ngsqvwggqp
121 vvpqetddac ifpdggpcps gswsqkrsfv yvwktwgqyw qvlggpvsgl sigtgramlg
181 thtmevtvyh rrgsrsyvpl ahsssaftit dvpfsvsvs qlraldggkn hflrnqpltf
```

241 alqlhdpsgy laeadlsytw dfgdssgtli sralvvthty lepgpvtaqv vlqaaipits
 301 cgsspvpgtt dghrptaeap nttagqvptt evvgttpgqa ptaepsgtts vqvpttevis
 361 tapvqmptae staaqvtte wvettarelp ipepegpdas simstesitg slgplldgta
 421 tlrivkrqvp ldcvlyrygs fsvtldivqg iesaeilqav psgegdafel tvscqgglpk
 481 eacmeisspg cqpapaqlcq pvlpspacql vlhqilkqgs gtyclnvsla dtntslavvt
 541 qlimpqqeag lggvplivgi llvlmavvla sliyrmlmk qdfsvpqlph ssshwlrlpr
 601 ifcscpigen spllsgqqv

[00108] NP_001186982 (SEQ ID NO: 275)

1 mdlvlkrcll hlavigalla vgakgsqvw ggqpvypqet ddacifpdgg pcpsgswsqk
 61 rsfvyvwktw gqywqvlggp vsglisgtgr amlgthtmev tyhrrgsrs yvplahsssa
 121 fttdqvdfs vsvsqrald ggnkhflrnq pltfalqlhd psgylaeadi sytwdfgdss
 181 gtisralv thylepgpv taqvlqaa pltscgsspv pgtdghrpt aeapnttagq
 241 vpttevvgtt pgqaptaeps gttsvqvptt evistapvqm ptaestgmp ekvpvsevmg
 301 tlaemstpe atgmtpaevs ivvlsgttaa qvttewvet tarelpipep egpdassims
 361 tesitgslgpl lldgtatrlr vkrqvpldcv lyrygsfsvt ldivggiesa eilqavpsge
 421 gdafeltvsc qgglpkeacm eisspgcqp aqlrcqpvlp spacqlvlhq ilkgsgtyc
 481 invsladtns lavvstqlim pgqeaglgqv plivgillvl mavvlasliy rrrlmkqdfs
 541 vpqlphsssh wlrlprifcs cpigenspll sgqqv

[00109] NP_001186983 (SEQ ID NO: 276)

1 mdlvlkrcll hlavigalla vgakvprnq dwlgvsrqlr tkawnrqlyp ewteaqlrdc
 61 wrggqvslkv sndgptliga nasfsialnf pgsqkvlpdg qviwvntii ngsqvwggqp
 121 vypqetddac ifpdggpcps gswsqkrsfv yvwktwgqyw qvlggpvsgl sigtgramlg
 181 thtmevtvyh rrgsrsyvpl ahsssaftit dqvfsvsvs qlraldggkn hflrnqpltf
 241 alqlhdpsgy laeadlsytw dfgdssgtli sralvvthty lepgpvtaqv vlqaaipits
 301 cgsspvpgtt dghrptaeap nttagqvptt evvgttpgqa ptaepsgtts vqvpttevis
 361 tapvqmptae stgmtpekvp vsevmgttla emstpeatgm tpaevsivvl sgtaaavtt
 421 tewvettare lpipepegpd assimstesi tgsigplldg tatrlvrkrq vpldcvlyry
 481 gfsvtldiv qgiesaeilq avpsgegdaft eltvscqggp pkeacmeiss pgcqpapaql
 541 cqpvlpspac qlvlhqilkq gsgtyclnvs ladtnslavv stqlimpvpg illtgqeagl
 601 gqvplivgil lvmavvlas liyrrlmkq dfsvpqlphs ssshwlrlpri fcscpigens
 661 pllsgqqv

[00110] NM_006928 (SEQ ID NO: 277)

1 cccagcgctc ctccccgcaa atgatccgc cccaggggcc tatccagtc ccccgatgc
 61 ctttggtgc tggagggaag aacacaatgg atctggtgct aaaaagatgc cttctcatt
 121 tggctgtgat aggtgcttg ctggctgtgg gggctacaaa agtaccaga aaccaggact
 181 ggcttggtgt ctcaaggcaa ctcaaacca aagcctggaa caggcagctg tatccagagt
 241 ggacagaagc ccagagactt gactgctgga gaggtgtgca agtgtccctc aaggtcagta
 301 atgatgggcc tacactgatt ggtgcaaatg cctcctctc tattgccttg aactccctg
 361 gaagccaaaa ggtattgcca gatgggcagg ttatctgggt caacaatacc atcatcaatg
 421 ggagccaggt gtggggagga cagccagtgt atccccagga aactgacgat gcctgcatct
 481 tccctgatgg tggacctgc ccatctggct ctggtctca gaagagaagc ttgtttatg
 541 tctggaagac ctggggccaa tactggcaag ttctaggggg cccagtgtct gggctgagca

601 ttgggacagg cagggcaatg ctgggcacac acaccatgga agtgactgtc taccatcgcc
 661 ggggatcccg gagctatgtg cctcttgctc attccagctc agccttcacc attactgacc
 721 aggtgccttt ctccgtgagc gtgtcccagt tgcgggcctt ggatggaggg aacaagcact
 781 tcctgagaaa tcagcctctg acctttgccc tccagctcca tgacccaggt ggctatctgg
 841 ctgaagctga cctctcctac acctgggact ttggagacag tagtgaacc ctgatctctc
 901 gggcacttgt ggtcactcat acttacctgg agcctggccc agtactgcc caggtgggcc
 961 tgcaggctgc cattctctc acctcctgtg gctcctccc agttccaggc accacagatg
 1021 ggcacaggcc aactgcagag gccctaaca ccacagctgg ccaagtgcct actacagaag
 1081 ttgtgggtac tacacctggt caggcgcaa ctgcagagcc ctctggaacc acatctgtgc
 1141 aggtgccaac cactgaagtc ataagcactg cacctgtgca gatgccaaact gcagagagca
 1201 caggtatgac acctgagaag gtgccagttt cagaggctcat ggtaccaca ctggcagaga
 1261 tgtaactcc agaggctaca ggtatgacac ctgcagaggt atcaattgtg gtgctttctg
 1321 gaaccacagc tgcacaggta acaactacag agtgggtgga gaccacagct agagagctac
 1381 ctatccctga gcctgaaggt ccagatgcca gctcaatcat gtctacggaa agtattacag
 1441 gtccctggg cccctgctg gatgttacag ccacctaag gctggtgaag agacaagtcc
 1501 ccttgattg tgttctgtat cgatatggtt cctttccgt caccctggac attgtccagg
 1561 gtattgaaag tgccgagatc ctgcaggctg tgccgtccgg tgagggggat gcatttgagc
 1621 tgactgtgtc ctgccaaggc gggctgccc aggaagcctg catggagatc tcacgccag
 1681 ggtgccagcc cctgcccag cggtgtgcc agcctgtgct acccagccc gctgccagc
 1741 tggttctgca ccagatactg aagggtggct cggggacata ctgcctcaat gtgtctctgg
 1801 ctgataccaa cagcctggca gtggtcagca ccagcttat catgcctggt caagaagcag
 1861 gcctgggca ggtccgctg atcgtgggca tctgtctggt gttgatggct gtggtcctg
 1921 catctctgat atataggcgc agactatga agcaagactt ctccgtacc cagttgccac
 1981 atagcagcag tactggctg cgtctacccc gcattctctg ctctgtccc attggtgaga
 2041 acagccccct cctcagtggg cagcaggctc gactactctc atatgatgct gtgattttcc
 2101 tggagttgac agaaacacct atattcccc cagtctccc tgggagacta ctattaactg
 2161 aaataaatac tcagagcctg aaaaaaaaaa aaaaa

[00111] NM_001200053 (SEQ ID NO: 278)

1 gggcctatcc cagtcccccc agtgcctttg gttgctggag ggaagaacac aatggatctg
 61 gtgctaaaaa gatgccttct tcatttggct gtgatagggt ctttctggc tgtgggggct
 121 acaaaaggga gccagggtgtg gggaggacag ccagtgtatc cccaggaaac tgacgatgcc
 181 tgcattctcc ctgatggttg acctgccc a tctggctctt ggtctcagaa gagaagcttt
 241 gtttatgtct ggaagacctg gggccaatac tggcaagttc tagggggccc agtgtctggg
 301 ctgagcattg ggacaggcag ggcaatgctg ggcacacaca ccatggaagt gactgtctac
 361 catcgccggg gatcccggag ctatgtgcct ctgtctatt ccagctcagc cttcaccatt
 421 actgaccagg tgcctttctc cgtgagcgtg tcccagttgc gggccttgga tggagggaaac
 481 aagcacttcc tgagaaatca gcctctgacc ttgcccctcc agctccatga cccagtggc
 541 tatctggctg aagctgacct ctctacacc tgggactttg gagacagtag tgaaccctg
 601 atctctcggg cactgtggt cactcatact tacctggagc ctggcccagt cactgccag
 661 gtggtctgc aggtgccaat tctctcacc tctgtggct cctccccagt tccaggcacc
 721 acagatgggc acaggccaac tgcagaggcc ctaaacacca cagctggcca agtgcctact
 781 acagaagttg tgggtactac acctgtcag gcgccaactg cagagccctc tgaaccaca
 841 tctgtgcagg tgccaaccac tgaagtcata agcactgcac ctgtgcagat gccaactgca
 901 gagagcacag gtatgacacc tgagaagggt ccagtttcag aggtcatggg taccacactg
 961 gcagagatgt caactccaga ggctacaggt atgacacctg cagaggtatc aattgtggtg
 1021 ctttctggaa ccacagctgc acaggtaaca actacagagt ggggtggagac cacagctaga
 1081 gagctaccta tccctgagcc tgaagggtcca gatgccagct caatcatgtc tacggaaagt

1141 attacagggt ccttgggccc cctgctggat ggtacagcca ccttaaggct ggtgaagaga
 1201 caagtccccc tggattgtgt tctgtatcga tatggttctt ttccgtcac cctggacatt
 1261 gtccagggtg ttgaaagtgc cgagatcctg caggctgtgc cgtccgggtga gggggatgca
 1321 ttgagctga ctgtgtcctg ccaaggcggg ctgccaagg aagcctgcat ggagatctca
 1381 tcgccagggt gccagcccc tgcccagcgg ctgtgccagc ctgtgtacc cagcccagcc
 1441 tgccagctgg ttctgcacca gatactgaag ggtggctcgg ggacatactg cctcaatgtg
 1501 tctctggctg ataccaacag cctggcagtg gtcagcacc agcttatcat gcctggtaa
 1561 gaagcaggcc ttgggcaggt tccgctgac gtgggcatct tgctgggtt gatggctgtg
 1621 gtccttgcat ctctgatata taggcgcaga ctatgaagc aagacttctc cgtacccag
 1681 ttgccacata gcagcagtc ctggctgctg ctaccccgca tcttctgtc ttgtccatt
 1741 ggtgagaaca gcccctcct cagtgggcag caggctctgag tactctcata tgatgctgtg
 1801 atttctctg agttgacaga aacacctata ttccccag tcttccttg gagactacta
 1861 ttaactgaaa taaatactca gagcctgaaa aaaaaaaaaa aa

[00112] NM_001200054 (SEQ ID NO: 279)

1 gggcctatcc cagtcccc agtgcccttg gttgctggag ggaagaacac aatggatctg
 61 gtgctaaaaa gatgccttct tcatttggct gtgatagggt ctttctggc tgtgggggct
 121 acaaaagtac ccagaaacca ggactggctt ggtgtctcaa ggcaactcag aaccaaagcc
 181 tggaacaggc agctgtatcc agagtggaca gaagcccaga gacttgactg ctggagaggt
 241 ggtaagtg cctcaaggt cagtaatgat gggcctacac tgattgggtc aaatgcctcc
 301 ttctctattg cctgaactt ccttgaagc caaaaggat tgccagatgg gcaggttatc
 361 tgggtcaaca ataccatcat caatgggagc cagggttggg gaggacagcc agtgtatccc
 421 caggaaactg acgatgctg catcttcct gatgtggac ctgcccac tggctcttg
 481 tctcagaaga gaagcttgt ttatgtctg aagacctgg gccaatactg gcaagttcta
 541 gggggcccag tgtctgggt gagcattgg acaggcagg caatgctgg cacacacacc
 601 atggaagtga ctgtctacca tcgccgggga tcccgagct atgtgcctt tgcattcc
 661 agctcagct tcaccattac tgaccagggt ctttctccg tgagcgtgtc ccagttgagg
 721 gccttggatg gaggaacaa gcacttctg agaatcagc ctctgacct tgcctccag
 781 ctcatgacc ccagtggcta tctgggtgaa gctgacctt cctacacct ggacttggg
 841 gacagtgtg gaacctgat ctctcgggca cttgtgtgta ctactacta cctggagcct
 901 ggccagtc ctgccagggt ggtcctgcag gctgccatt ctctcacctc ctgtggctcc
 961 tccccagtc caggcaccac agatgggcac aggccaactg cagaggcccc taacaccaca
 1021 gctggccaag tgctactac agaagttgt ggtactacac ctggtcaggc gccaaactga
 1081 gagccctctg gaaccacatc tgtcagggt ccaaccactg aagtcataag cactgcacct
 1141 gtgcagatgc caactgcaga gagcacaggt atgacacctg agaaggtgcc agtttcagag
 1201 gtcatgggtg ccactctg agagatgtca actccagagg ctacaggtat gacacctgca
 1261 gaggtatcaa ttgtgggtct ttctggaacc acagctgcac aggttaacaac tacagagtgg
 1321 gtggagacca cagctagaga gctacctatc cctgagcctg aaggtccaga tgccagctca
 1381 atcatgtcta cggaaagtat tacaggttcc ctgggcccc tgctggatgg tacagccacc
 1441 ttaaggctgg tgaagagaca agtccccctg gattgtgtt tgtatcgata tggttcctt
 1501 tccgtaccc tggacattgt ccagggtatt gaaagtgcg agatcctgca ggctgtgccg
 1561 tccggtgagg gggatgcatt tgagctgact gtgtcctgcc aaggcgggct gccaaaggaa
 1621 gcctgcatgg agatctcatc gccagggtgc cagccccctg ccagcggct gtgccagct
 1681 gtgtaccaca gccagcctg ccagctggtt ctgcaccaga tactgaaggg tggctcggg
 1741 acatactgcc tcaatgtgtc tctggctgat accaacagcc tggcagtggt cagcaccag
 1801 ctatcatgc ctgtgcctg gatttctc acaggtaag aagcaggcct tgggcaggtt
 1861 ccgctgatc tgggcatct gctgggtgt atggctgtg tcttgcac tctgatata
 1921 aggcgcagac ttatgaagca agacttctc gtacccagtg gccacatag cagcagtcac

1981 tggctgcgtc taccccgcat cttctgctct tgtccattg gtgagaacag cccctcctc
 2041 agtgggcagc aggtctgagt actctcatat gatgctgtga ttttctgga gttgacagaa
 2101 acacctatat tccccagc cttcctggg agactactat taactgaaat aaatactcag
 2161 agcctgaaaa aaaaaaaaaa a

[00113] NM_001320121 (SEQ ID NO: 280)

1 gggcctatcc cagtcccccc agtgcctttg gttgctggag ggaagaacac aatggatctg
 61 gtgctaaaaa gatgccttct tcatttggct gtgatagggt ctttctggc tgtgggggct
 121 acaaaagtac ccagaaacca ggactggctt ggtgtctcaa ggcaactcag aaccaaagcc
 181 tggaacaggc agctgtatcc agagtggaca gaagcccaga gacttgactg ctggagaggt
 241 ggtaagtg cctcaaggt cagtaatgat gggcctacac tgattggtgc aaatgcctcc
 301 ttcttattg cttgaactt ccctggaagc caaaagggtat tgccagatgg gcaggttatc
 361 tgggtcaaca ataccatcat caatgggagc caggtgtggg gaggacagcc agtgtatccc
 421 caggaaactg acgatgcctg catctccct gatggtggac cttgccatc tggctcttg
 481 tctcagaaga gaagcttctg ttatgtctgg aagacctggg gccaatactg gcaagttcta
 541 gggggcccag tgtctgggt gagcattggg acaggcaggg caatgtctgg cacacacacc
 601 atggaagtga ctgtctacca tcgccgggga tcccggagct atgtgcctct tgctcattcc
 661 agctcagcct tcaccattac tgaccagggt ctttctccg tgagcgtgc ccagttgagg
 721 gccttgatg gaggaacaa gcacttctg agaaatcagc ctctgacct tgccctccag
 781 ctccatgacc ccagtggcta tctggctgaa gctgacctt cctacacct ggactttgga
 841 gacagttagt gaaccctgat ctctcgggca cttgtgtca ctcatactta cctggagcct
 901 ggcccagtca ctgccaggt ggtcctgcag gctgccattc ctctcacctc ctgtggctcc
 961 tccccagttc caggcaccac agatgggcac aggcactg cagaggcccc taacaccaca
 1021 gctggccaag tgctactac agaagttgt ggtactacac ctggtcaggc gccaactgca
 1081 gagccctctg gaaccacatc tgtcagggt ccaaccactg aagtcataag cactgcacct
 1141 gtgcagatgc caactgcaga gagcacagct gcacaggtaa caactacaga gtgggtggag
 1201 accacagcta gagagctacc tatccctgag cctgaagggt cagatgccag ctcaatcatg
 1261 tctacggaaa gtattacagg ttccctgggc cccctgctgg atggtacagc caccttaagg
 1321 ctggtgaaga gacaagtccc cctggattgt gttctgtatc gatatgggtc ctttccgtc
 1381 accctggaca ttgtccaggg tattgaaagt gccgagatcc tgcaggctgt gccgtccggt
 1441 gagggggatg catttgagct gactgtgtcc tgccaaggcg ggctgcccga ggaagcctgc
 1501 atggagatct catcgccagg gtgccagccc cctgccagc ggctgtgcca gcctgtgcta
 1561 ccagcccag cctgccagct ggttctgcac cagatactga aggttggtc ggggacatac
 1621 tgctcaatg tgtctctggc tgataccaac agcctggcag tggtcagcac ccagcttatc
 1681 atgcctgtgc ctgggattct tctcacaggt caagaagcag gcctgggca ggttccgctg
 1741 atcgtgggca tctgtctggt gttgatggct gtggtccttg catctctgat atataggcgc
 1801 agacttatga agcaagactt ctccgtaccc cagttgccac atagcagcag tcactggctg
 1861 cgtctacccc gcatttctg ctctgtccc attggtgaga acagccccct cctcagttgg
 1921 cagcaggtct gactactctc atatgatgct gtgattttcc tggagttgac agaaacacct
 1981 atatttccc cagtcttccc tgggagacta ctattaactg aaataaatac tcagagcctg
 2041 a

[00114] NM_001320122 (SEQ ID NO: 281)

1 gggcctatcc cagtcccccc agtgcctttg gttgctggag ggaagaacac aatggatctg
 61 gtgctaaaaa gatgccttct tcatttggct gtgatagggt ctttctggc tgtgggggct
 121 acaaaagtac ccagaaacca ggactggctt ggtgtctcaa ggcaactcag aaccaaagcc
 181 tggaacaggc agctgtatcc agagtggaca gaagcccaga gacttgactg ctggagaggt
 241 ggtaagtg cctcaaggt cagtaatgat gggcctacac tgattggtgc aaatgcctcc

301 ttctctattg ccttgaactt ccctggaagc caaaaggtat tgccagatgg gcaggttacc
 361 tgggtcaaca ataccatcat caatgggagc caggtgtggg gaggacagcc agtgtatccc
 421 caggaaactg acgatgcctg catcttcctt gatgtgggac ctgcccacac tggctcttgg
 481 tctcagaaga gaagcttgtt ttatgtctgg aagacctggg gccaatactg gcaagttcta
 541 gggggcccag tgtctgggct gagcattggg acaggcaggg caatgctggg cacacacacc
 601 atggaagtga ctgtctacca tcgccgggga tcccggagct atgtgcctct tgctcattcc
 661 agctcagcct tcaccattac tgaccaggtg ctttctccg tgagcgtgtc ccagttgcgg
 721 gccttgatg gaggaacaa gcacttctg agaaatcagc ctctgacctt tgcctccag
 781 ctcatgacc ccagtggtga tctgggtgaa gctgacctt cctacacctg ggactttgga
 841 gacagtagtg gaacctgat ctctcgggca ctgtgtgtca ctacactta cctggagcct
 901 ggcccagtc ctgccaggt ggtcctgcag gctgccattc ctctacctc ctgtggctcc
 961 tccccagttc caggcaccac agatgggac aggccaaactg cagaggcccc taacaccaca
 1021 gctggccaag tgctactac agaagtgtg ggtactacac ctggtcaggc gccaaactga
 1081 gagccctctg gaaccacatc tgtcaggtg ccaaccactg aagtcataag cactgcacct
 1141 gtgcagatgc caactgcaga gagcacagct gcacaggtaa caactacaga gtgggtggag
 1201 accacagcta gagagctacc tatccctgag cctgaaggtc cagatgccag ctcaatcatg
 1261 tctacggaaa gtattacagg ttccctgggc ccctgtctg atggtacagc caccttaagg
 1321 ctgtggaaga gacaagtcct cctggattgt gttctgtatc gatatgggtc ctttccgtc
 1381 accctggaca ttgtccaggg tattgaaagt gccgagatcc tgcaggctgt gccgtccggt
 1441 gagggggatg catttgagct gactgtgtcc tgccaaggcg ggctgccaa ggaagcctgc
 1501 atggagatct catcgccagg gtgccagccc cctgccagc ggctgtgcca gcctgtgcta
 1561 cccagcccag cctgccagct ggttctgcac cagatactga aggggtggctc ggggacatac
 1621 tgctcaatg tgtctctggc tgataccaac agcctggcag tggtcagcac ccagcttacc
 1681 atgcctggc aagaagcagg ccttgggcag gttccgctga tcgtgggcat ctgtctggg
 1741 ttgatggctg tggctctgc atctctgata tataggcgca gacttatgaa gcaagacttc
 1801 tccgtacccc agttgccaca tagcagcagc cactggctgc gtctacccc catcttctgc
 1861 tcttgccca ttggtgagaa cagccccctc ctacgtggg agcaggctg agtactctca
 1921 tatgatgctg tgatttctt ggagttgaca gaaacaccta tatttcccc agtcttcct
 1981 gggagactac tattaactga aataaatact cagagcctga

[00115] El término “variante” se refiere a un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos sustancialmente idéntica a un polipéptido de referencia, o está codificada por una secuencia de nucleótidos sustancialmente idéntica, y que es capaz de tener una o más actividades del polipéptido de referencia. Por ejemplo, una variante puede tener aproximadamente 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o una identidad de secuencia superior a un polipéptido de referencia, mientras que retiene una o más actividades del polipéptido de referencia.

[00116] De acuerdo con la presente, los términos “tratar”, “tratando”, o “tratamiento” de cualquier enfermedad o trastorno se refieren en una forma de realización, a mejorar la enfermedad o trastorno (es decir, ralentizar o detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o por lo menos uno de sus síntomas clínicos). En otra forma de realización, “tratar”, “tratando”, o “tratamiento” se refiere a aliviar o mejorar por lo menos un parámetro físico incluso aquellos que no pueden ser percibidos por el paciente. En aún otra forma de realización, “tratar”, “tratando”, o “tratamiento” se refiere a modular la enfermedad o trastorno, ya sea físicamente,

(*por ejemplo*, estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente, (*por ejemplo*, estabilización de un parámetro físico), o ambas.

[00117] De acuerdo con la presente, el término "prevenir", "previniendo" o "prevención" de cualquier enfermedad o trastorno se refiere al tratamiento profiláctico de la enfermedad o trastorno, o a retrasar el inicio o la progresión de la enfermedad o trastorno.

[00118] El término "cantidad terapéuticamente aceptable" o "dosis terapéuticamente efectiva" se refieren indistintamente a una cantidad suficiente para lograr el resultado deseado (*es decir*, una reducción en el tamaño del tumor, inhibición del crecimiento tumoral, prevención de metástasis, inhibición o prevención de una infección viral, bacteriana, fúngica o parasitaria). En algunas formas de realización, una cantidad terapéuticamente aceptable no induce ni causa efectos secundarios indeseables. En algunas formas de realización, una cantidad terapéuticamente aceptable induce o causa efectos secundarios, pero solo aquellos que son aceptables para los médicos considerando la condición del paciente. Se puede determinar una cantidad terapéuticamente aceptable administrando primero una dosis baja y luego aumentando gradualmente esa dosis hasta que se logre el efecto deseado. Una "dosis profilácticamente efectiva" y una "dosis terapéuticamente efectiva" de las moléculas de la invención pueden prevenir la aparición de, o resultar en una disminución en la severidad de, respectivamente, los síntomas de la enfermedad, incluidos los síntomas asociados con el cáncer.

[00119] El término "coadministrar" se refiere a la presencia de dos agentes activos en la sangre de un individuo. Los agentes activos que se administran conjuntamente pueden administrarse de forma simultánea o secuencial.

[00120] La presente invención provee anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno), y conjugados con fármacos de los mismos, *es decir*, conjugados de anticuerpo fármaco o ADCs, que se unen a PMEL17. En particular, la presente invención provee anticuerpos y fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se unen a PMEL17, y se internalizan ante tal unión. Los anticuerpos y fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) de la presente invención pueden ser usados para producir conjugados de anticuerpo fármaco. Además, la presente invención provee conjugados de anticuerpo fármaco que tienen características farmacocinéticas deseables y otros atributos deseables y, por lo tanto, pueden usarse para tratar o prevenir un cáncer que expresa PMEL17. La presente invención además provee composiciones farmacéuticas que comprenden los conjugados de anticuerpo fármaco de la

invención, y métodos de preparación y uso de tales composiciones farmacéuticas para el tratamiento o prevención del cáncer.

Resto de fármaco (D)

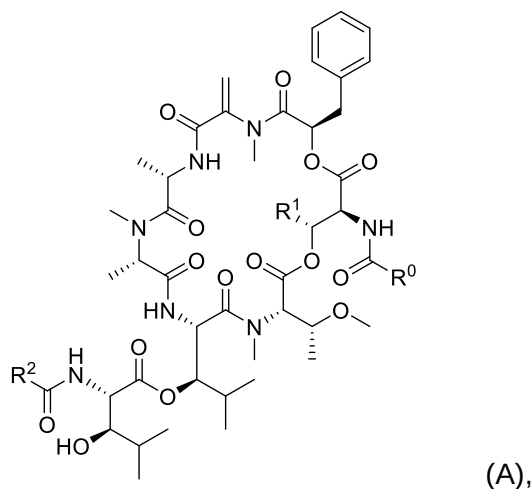
[00121] En un aspecto, el resto de Fármaco (D) del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención es un inhibidor de GNAQ, un inhibidor de GNA11, o un inhibidor de GNAQ y GNA11 (inhibidor de GNAQ/GNA11).

[00122] En otro aspecto, el resto de Fármaco (D) del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención es un inhibidor de GNAQ.

[00123] En otro aspecto, el resto de Fármaco (D) del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención es un inhibidor de GNA11.

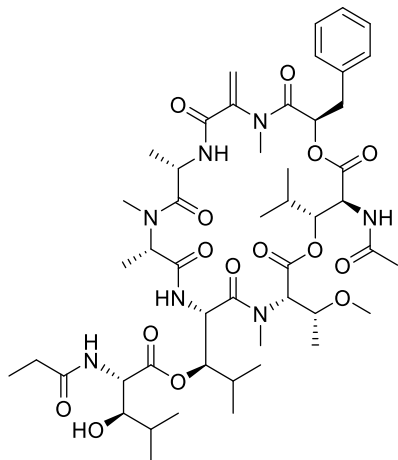
[00124] En otro aspecto, el resto de Fármaco (D) del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención es un inhibidor de GNAQ y GNA11 (inhibidor de GNAQ/GNA11).

[00125] En otro aspecto, el resto de Fármaco del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención es un compuesto que tiene la estructura de la Fórmula (A):



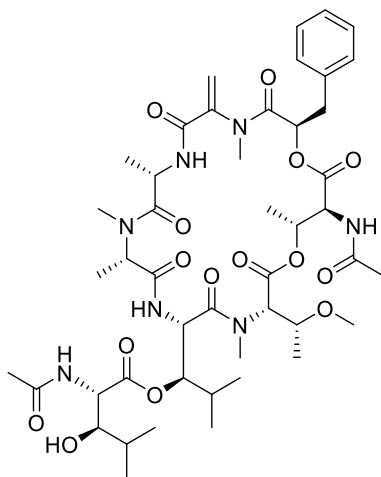
en donde R₀ es metilo o etilo, R₁ es metilo o i-propilo, y R₂ es metilo o etilo.

[00126] En otro aspecto, el resto de Fármaco del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención es compuesto (A1) que tiene la siguiente estructura:



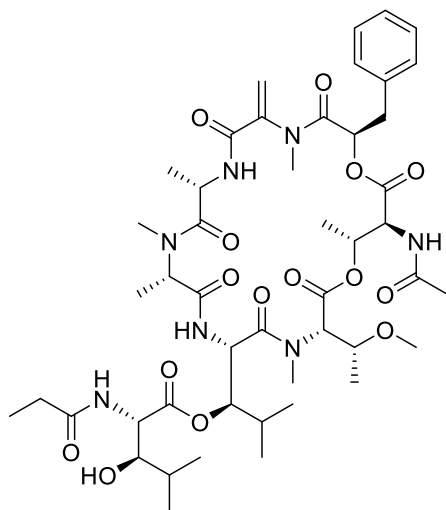
(A1).

[00127] En otro aspecto, el resto de Fármaco del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención es compuesto (A2) que tiene la siguiente estructura:



(A2).

[00128] En otro aspecto, el resto de Fármaco del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención es compuesto (A3) que tiene la siguiente estructura:



(A3).

La Tabla 1 proporciona la actividad inhibitoria de los compuestos (A1), (A2) y (A3) obtenidos usando el ensayo descrito en el Ejemplo 5.

Tabla 1

Compuesto	GI ₅₀ (nM) 92.1GNAQ ^{Q209L}
A1	0,467
A2	22,1
A3	9,3

Resto Enlazador-Fármaco ($L_A-(D)_n$)

[00129] En un segundo aspecto, el resto Enlazador-Fármaco, ($(L_A-(D)_n)$), del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención comprende uno o más restos de Fármaco covalentemente unidos a un enlazador (L_A), en donde el único o más restos de Fármaco son respectiva e independientemente seleccionados entre un inhibidor de GNAQ, un inhibidor de GNA11 o un inhibidor de GNAQ y GNA11 (inhibidor de GNAQ/GNA11).

[00130] En otro aspecto, el resto Enlazador-Fármaco, ($(L_A-(D)_n)$), del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención comprende uno o más restos de Fármaco covalentemente unidos a un enlazador (L_A), en donde el único o más restos de Fármaco son respectiva e independientemente seleccionados entre un inhibidor de GNAQ.

[00131] En otro aspecto, el resto Enlazador-Fármaco, ($(L_A-(D)_n)$), del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención comprende uno o más restos de Fármaco unidos a un enlazador (L_A), en donde el único o más restos de Fármaco son respectiva e independientemente seleccionados entre un inhibidor de GNA11.

[00132] En otro aspecto, el resto Enlazador-Fármaco, ($(L_A-(D)_n)$), del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención comprende uno o más restos de Fármaco covalentemente unidos a un enlazador (L_A), en donde el único o más restos de Fármaco son respectiva e independientemente seleccionados entre un inhibidor de GNAQ y GNA11 (inhibidor de GNAQ/GNA11).

[00133] En otro aspecto, el resto Enlazador-Fármaco, $((L_A-(D)_n))$, del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención comprende uno o más restos de Fármaco covalentemente unidos a un enlazador (L_A), en donde el enlazador (L_A) es un enlazador escindible y el único o más restos de Fármaco son respectiva e independientemente seleccionados entre un inhibidor de GNAQ, un inhibidor de GNA11 o un inhibidor de GNAQ y GNA11 (inhibidor de GNAQ/GNA11).

[00134] En otro aspecto, el resto Enlazador-Fármaco, $((L_A-(D)_n))$, del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención comprende uno o más restos de Fármaco covalentemente unidos a un enlazador (L_A), en donde el enlazador (L_A) es un enlazador escindible y el único o más restos de Fármaco son respectiva e independientemente seleccionados entre un inhibidor de GNAQ.

[00135] En otro aspecto, el resto Enlazador-Fármaco, $((L_A-(D)_n))$, del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención comprende uno o más restos de Fármaco covalentemente unidos a un enlazador (L_A), en donde el enlazador (L_A) es un enlazador escindible y el único o más restos de Fármaco son respectiva e independientemente seleccionados entre un inhibidor de GNA11.

[00136] En otro aspecto, el resto Enlazador-Fármaco, $((L_A-(D)_n))$, del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención comprende uno o más restos de Fármaco covalentemente unidos a un enlazador (L_A), en donde el enlazador (L_A) es un enlazador escindible y el único o más restos de Fármaco son respectiva e independientemente seleccionados entre un inhibidor de GNAQ y GNA11 (inhibidor de GNAQ/GNA11).

[00137] En otro aspecto, el resto Enlazador-Fármaco, $((L_A-(D)_n))$, del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención comprende uno o más restos de Fármaco covalentemente unidos a un enlazador (L_A), en donde el enlazador (L_A) es un enlazador no escindible y el único o más restos de Fármaco son respectiva e independientemente seleccionados entre un inhibidor de GNAQ, un inhibidor de GNA11 o un inhibidor de GNAQ y GNA11 (inhibidor de GNAQ/GNA11).

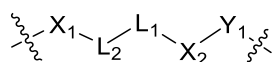
[00138] En otro aspecto, el resto Enlazador-Fármaco, $((L_A-(D)_n))$, del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención comprende uno o más restos de Fármaco covalentemente unidos a un enlazador (L_A), en donde el enlazador (L_A) es un enlazador no escindible y el único o más restos de Fármaco son respectiva e independientemente seleccionados entre un inhibidor de GNAQ.

[00139] En otro aspecto, el resto Enlazador-Fármaco, $((L_A-(D)_n))$, del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención comprende uno o más restos de Fármaco covalentemente

unidos a un enlazador (L_A), en donde el enlazador (L_A) es un enlazador no escindible y el único o más restos de Fármaco son respectiva e independientemente seleccionados entre un inhibidor de GNA11.

[00140] En otro aspecto, el resto Enlazador-Fármaco, $((L_A-(D)_n))$, del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención comprende uno o más restos de Fármaco covalentemente unidos a un enlazador (L_A), en donde el enlazador (L_A) es un enlazador no escindible y el único o más restos de Fármaco son respectiva e independientemente seleccionados entre un inhibidor de GNAQ y GNA11 (inhibidor de GNAQ/GNA11).

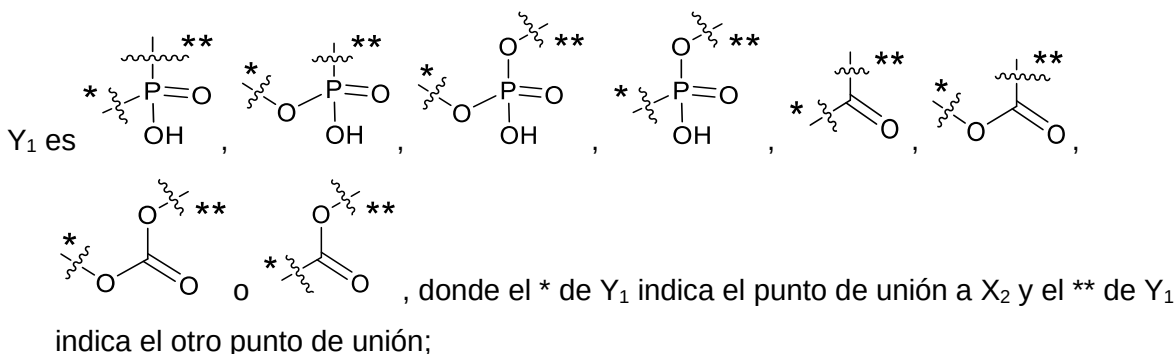
[00141] En otro aspecto, el enlazador (L_A) del resto Enlazador-Fármaco, $((L_A-(D)_n))$, del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención tiene la siguiente fórmula:



en donde:

X_1 es un grupo de acoplamiento bivalente;

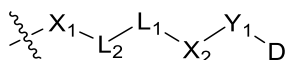
X_2 es un espaciador autoinmolativo;



L_1 es un enlazador peptídico bivalente, y

L_2 es un enlace o un enlazador.

[00142] En otro aspecto, el resto Enlazador-Fármaco, $((L_A-(D)_n))$, del Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención tiene la siguiente fórmula:

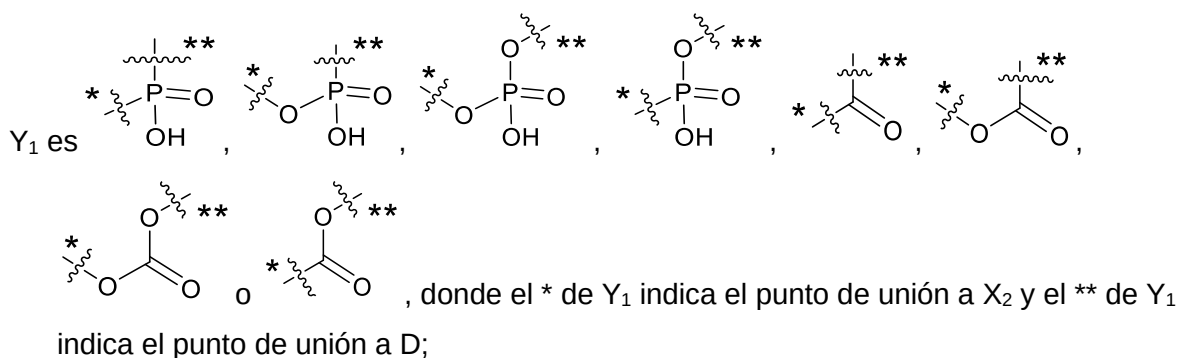


en donde:

D es un inhibidor de GNAQ, un inhibidor de GNA11 o un inhibidor de GNAQ y GNA11;

X_1 es un grupo de acoplamiento bivalente;

X_2 es un espaciador autoinmolativo;



L₁ es un enlazador peptídico bivalente, y

L₂ es un enlace o un enlazador.

Compuestos de Enlazador-Fármaco (L_B-(D)_n)

[00143] En un aspecto el Enlazador-Fármaco de la invención es un compuesto que tiene la estructura de la Fórmula (B), o estereoisómeros o sales farmacéuticamente aceptables del mismo,



en donde:

D es un inhibidor de GNAQ, un inhibidor de GNA11 o un inhibidor de GNAQ y GNA11;

R⁸ es un grupo reactivo;

L_B es un enlazador escindible o un enlazador no escindible, y

n es 1, 2, 3 o 4.

[00144] En un aspecto el Enlazador-Fármaco de la invención tiene la estructura de la Fórmula (B), o estereoisómeros o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en donde

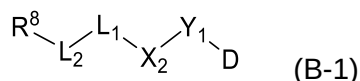
D es un inhibidor de GNAQ, un inhibidor de GNA11 o un inhibidor de GNAQ y GNA11;

R⁸ es un grupo reactivo;

L_B es un enlazador escindible que comprende uno o más componentes enlazadores seleccionados entre un espaciador autoinmolativo, un grupo fosfato, un grupo carbonato y un enlazador peptídico bivalente, y

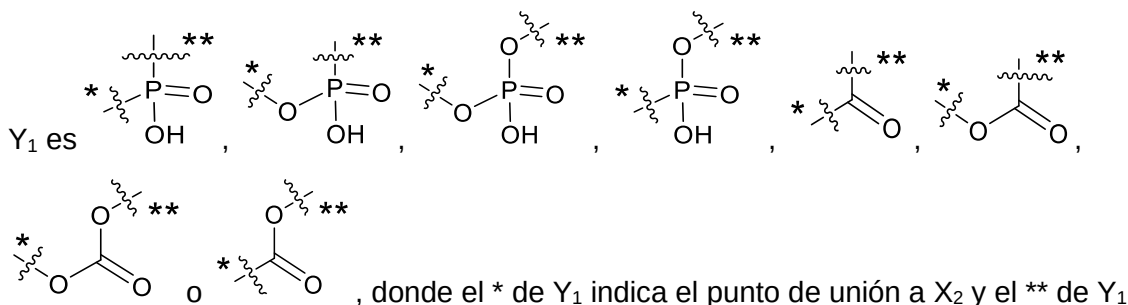
n es 1, 2, 3 o 4.

[00145] En un aspecto el Enlazador-Fármaco de la invención es un compuesto que tiene la estructura de la Fórmula (B-1), o estereoisómeros o sales farmacéuticamente aceptables del mismo,



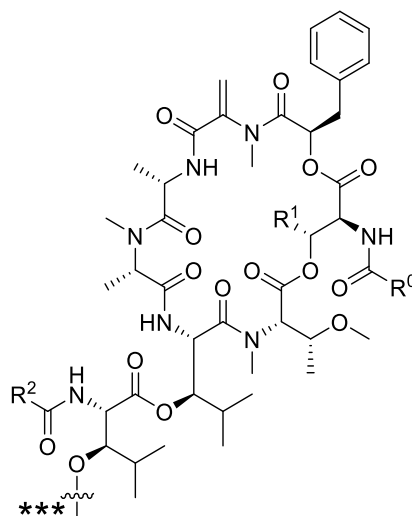
en donde:

X_2 es un espaciador autoinmolativo;



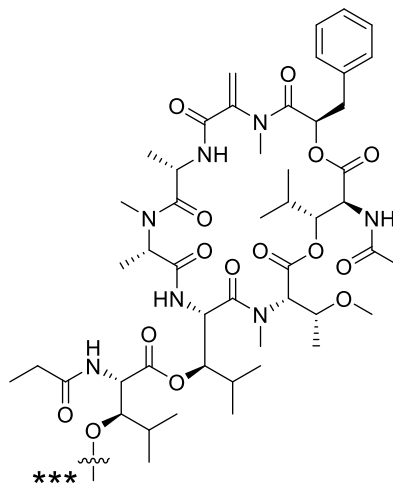
L_2 es un enlace o un enlazador.

[00150] Forma de realización 4. El compuesto de la Fórmula (B) o la Fórmula (B-1), o estereoisómeros o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde D es



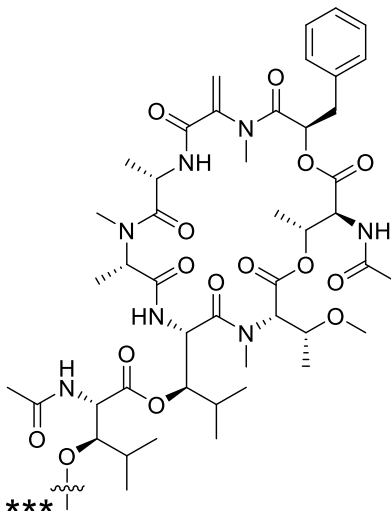
en donde R^0 es metilo o etilo, R^1 es metilo o isopropilo, R^2 es metilo o etilo, y el *** indica el punto de unión a L_B o Y_1 .

[00151] Forma de realización 5. El compuesto de la Fórmula (B) o la Fórmula (B-1), o estereoisómeros o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde D es



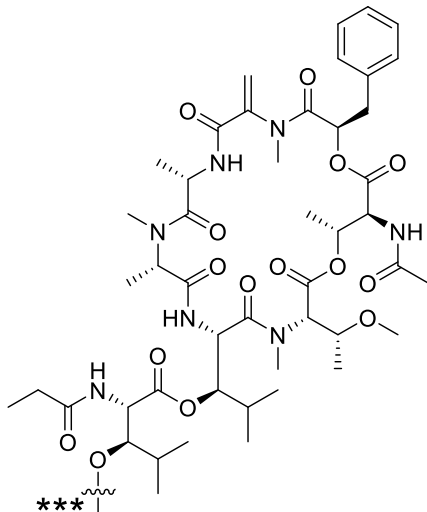
donde el *** indica el punto de unión a L_B o Y_1 .

[00152] Forma de realización 6. El compuesto de la Fórmula (B) o la Fórmula (B-1), o estereoisómeros o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde D es



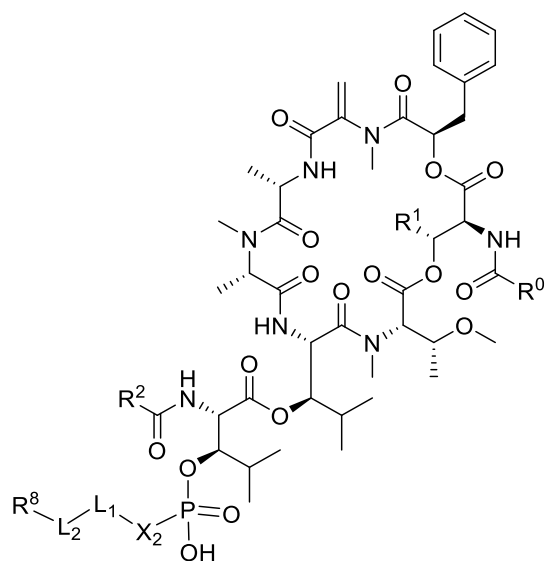
donde el *** indica el punto de unión a L_B o Y_1 .

[00153] Forma de realización 7. El compuesto de la Fórmula (B) o la Fórmula (B-1), o estereoisómeros o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde D es



donde el *** indica el punto de unión a L_B o Y_1 .

[00154] Forma de realización 8. El compuesto de la Fórmula (B) o la Fórmula (B-1), o estereoisómeros o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene la estructura de la Fórmula (B-2), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



(B-2),

en donde:

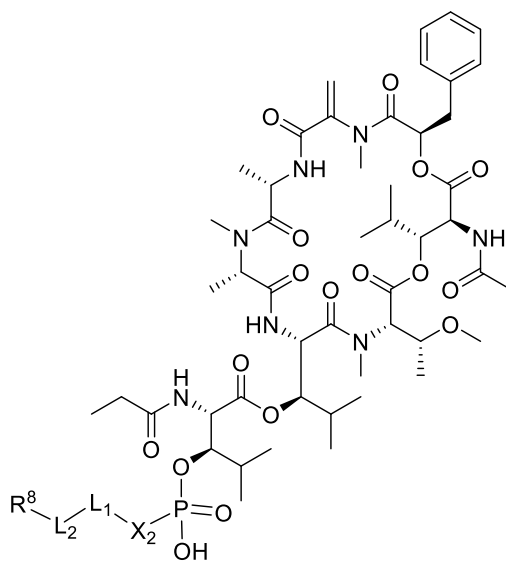
R^0 es metilo o etilo;

R^1 es metilo o isopropilo;

R^2 es metilo o etilo, y

X_2 , L_1 , L_2 y R^8 son tal cual han sido definidos en los compuestos de la Fórmula (B-1) precedente.

[00155] Forma de realización 9. El compuesto de la Fórmula (B), la Fórmula (B-1) o la Fórmula (B-2), o estereoisómeros o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene la estructura de la Fórmula (B-2a), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

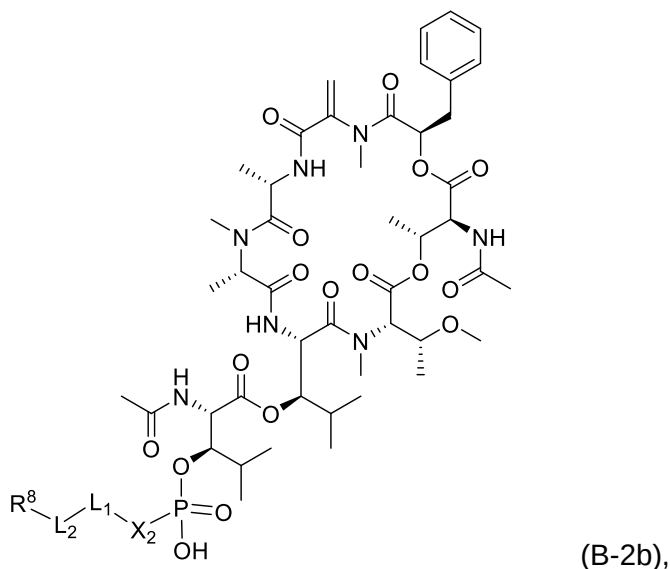


(B-2a),

en donde:

X_2 , L_1 , L_2 y R^8 son tal cual han sido definidos en los compuestos de la Fórmula (B-1) precedente.

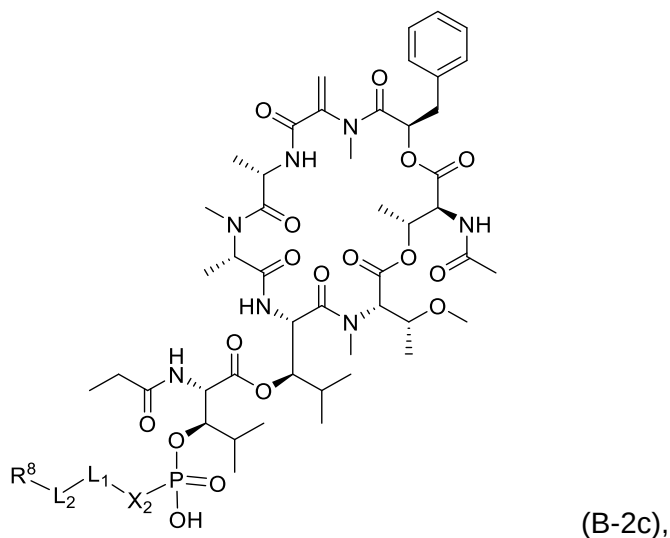
[00156] Forma de realización 10. El compuesto de la Fórmula (B), la Fórmula (B-1) o la Fórmula (B-2), o estereoisómeros o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene la estructura de la Fórmula (B-2b), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



en donde:

X_2 , L_1 , L_2 y R^8 son tal cual han sido definidos en los compuestos de la Fórmula (B-1) precedente.

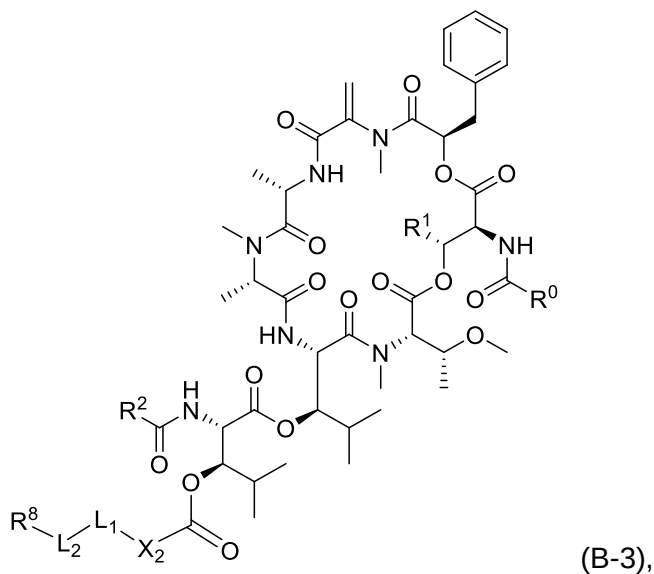
[00157] Forma de realización 11. El compuesto de la Fórmula (B), la Fórmula (B-1) o la Fórmula (B-2), o estereoisómeros o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene la estructura de la Fórmula (B-2c), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



en donde:

X₂, L₁, L₂ y R⁸ son tal cual han sido definidos en los compuestos de la Fórmula (B-1) precedente.

[00158] Forma de realización 12. El compuesto de la Fórmula (B) o la Fórmula (B-1), o estereoisómeros o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene la estructura de la Fórmula (B-3), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



en donde:

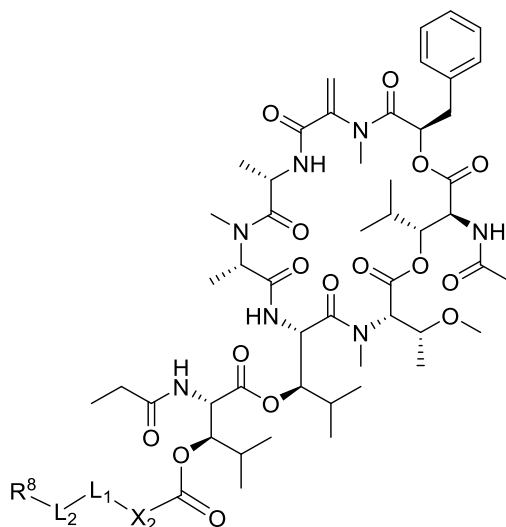
R⁰ es metilo o etilo;

R¹ es metilo o isopropilo;

R² es metilo o etilo, y

X₂, L₁, L₂ y R⁸ son tal cual han sido definidos en los compuestos de la Fórmula (B-1) precedente.

[00159] Forma de realización 13. El compuesto de la Fórmula (B), la Fórmula (B-1) o la Fórmula (B-3), o estereoisómeros o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene la estructura de la Fórmula (B-3a), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

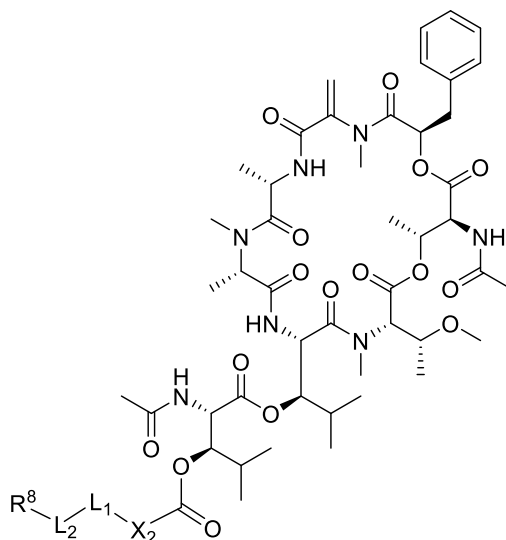


(B-3a),

en donde:

X_2 , L_1 , L_2 y R^8 son tal cual han sido definidos en los compuestos de la Fórmula (B-1) precedente.

[00160] Forma de realización 14. El compuesto de la Fórmula (B), la Fórmula (B-1) o la Fórmula (B-3), o estereoisómeros o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene la estructura de la Fórmula (B-3b), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



(B-3b),

en donde:

X_2 , L_1 , L_2 y R^8 son tal cual han sido definidos en los compuestos de la Fórmula (B-1) precedente.

[00161] Forma de realización 15. El compuesto de la Fórmula (B), la Fórmula (B-1) o la Fórmula (B-3), o estereoisómeros o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene la estructura de la Fórmula (B-3c), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

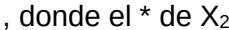


X₂, L₁, L₂ y R⁸ son tal cual han sido definidos en los compuestos de la Fórmula (B-1) precedente.

en donde:

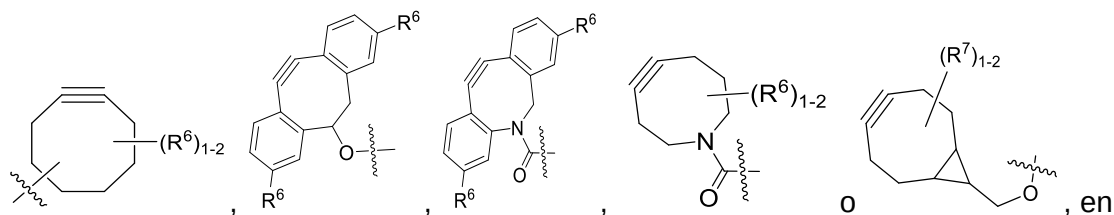
R¹ es metilo o isopropilo;

R² es metilo o etilo;



O=C1C=CC(=O)N1

Chemical structures of monomers 1 through 5 are shown. Monomer 1 is 4,5-difluorophenyl acetate. Monomer 2 is 1,2,3,4-tetrafluorophenyl acetate. Monomer 3 is N-acetylpyrrolidone. Monomer 4 is N-(2-acetoxyethyl)pyrrolidone. Monomer 5 is 1,1-dimethyl-2,3,4,5-tetraethynylcyclooctane.



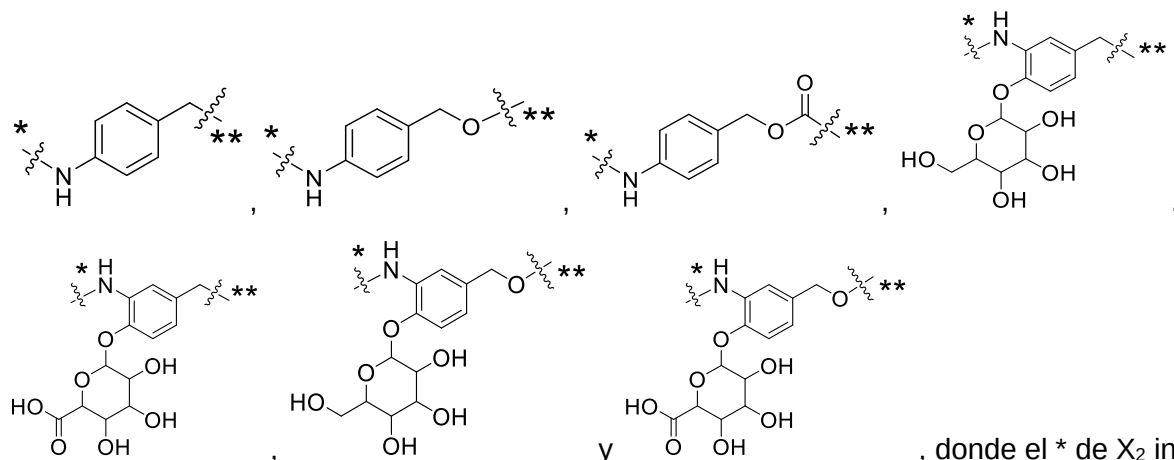
cada R⁴ es independientemente seleccionado entre H y alquilo C₁-C₆;

cada R⁵ es independientemente seleccionado entre H, alquilo C₁-C₆, F, Cl, y -OH;

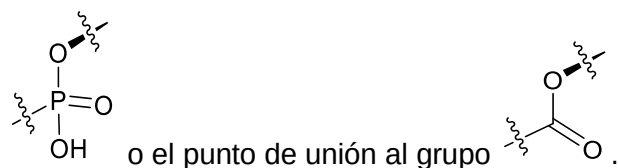
cada R⁶ es independientemente seleccionado entre H, alquilo C₁-C₆, F, Cl, -NH₂, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -N(CH₃)₂, -CN, -NO₂ y -OH,

cada R⁷ es independientemente seleccionado entre H, alquilo C₁₋₆, fluoro, benciloxi sustituido con -C(=O)OH, bencilo sustituido con -C(=O)OH, C₁₋₄ alcoxi sustituido con -C(=O)OH y alquilo C₁₋₄ sustituido con -C(=O)OH.

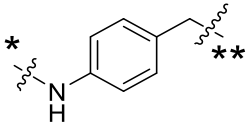
[00163] Forma de realización 17. El compuesto de cualquiera de las Formas de Realización 1 a 16, en donde X_2 es un espaciador autoinmolativo seleccionado entre

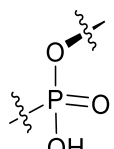


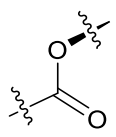
, donde el * de X_2 indica el punto de unión a L_1 y el ** de X_2 indica el punto de unión a Y_1 , el punto de unión al grupo



[00164] Forma de realización 18. El compuesto de cualquiera de las Formas de

Realización 1 a 17, en donde X_2 es , donde el * de X_2 indica el punto de

unión a L_1 y el ** de X_2 indica el punto de unión a Y_1 , el punto de unión al grupo  o el

punto de unión al grupo .

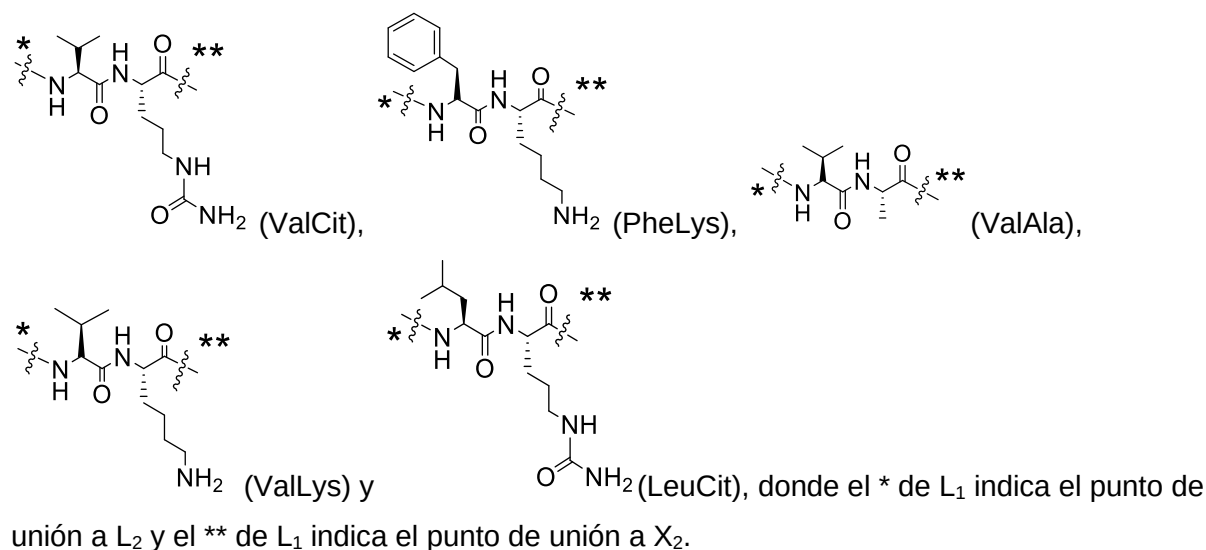
[00165] Forma de realización 19. El compuesto de cualquiera de las Formas de Realización 1 a 18, en donde L_1 es un enlazador peptídico bivalente que comprende 2 a 4 residuos de aminoácidos.

[00166] Forma de realización 20. El compuesto de cualquiera de las Formas de Realización 1 a 18, en donde L_1 es un enlazador peptídico bivalente que comprende un residuo de aminoácido seleccionado de valina, citrulina, lisina, isoleucina, fenilalanina, metionina, asparagina, prolina, alanina, leucina, triptófano y tirosina.

[00167] Forma de realización 21. El compuesto de cualquiera de las Formas de Realización 1 a 18, en donde L_1 es un enlazador peptídico bivalente que comprende al menos un residuo de valina (Val) o citrulina (Cit).

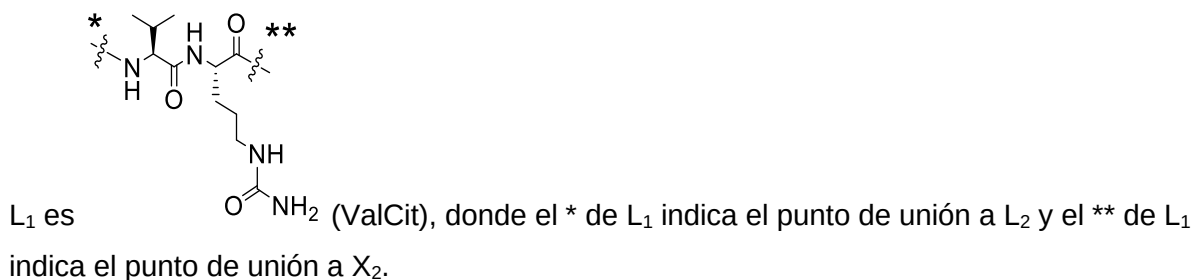
[00168] Forma de realización 22. El compuesto de cualquiera de las Formas de Realización 1 a 18, en donde L_1 es un enlazador dipeptídico bivalente seleccionado entre ValCit, PheLys, ValAla y ValLys.

[00169] Forma de realización 23. El compuesto de cualquiera de las Formas de Realización 1 a 18, en donde L_1 es un enlazador dipeptídico bivalente seleccionado entre



[00170] Forma de realización 24. El compuesto de cualquiera de las Formas de Realización 1 a 18, en donde L_1 es ValCit.

[00171] Forma de realización 25. El compuesto de cualquiera de las Formas de Realización 1 a 18, en donde



[00172] Forma de realización 26. El compuesto de cualquiera de las Formas de Realización 1 a 25, en donde L_2 es un enlazador.

[00173] Forma de realización 27. El compuesto de cualquiera de las Formas de Realización 1 a 25, en donde L_2 es un enlazador seleccionado entre:

$-^*C(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m^{**}-$, $-^*C(=O)(CH_2)_m^{**}-$, $-^*C(=O)(CH_2)_nNHC(=O)(CH_2)_m^{**}-$, $-^*C(=O)(CH_2)_mNHC(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m^{**}-$, $-^*((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m^{**}-$, $-^*((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m^{**}-$, $-^*((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m^{**}-$, $-(CH_2)_m-$, $-^*(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m^{**}-$, $-^*((CH_2)_mO)_p(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m^{**}-$, $-^*((CH_2)_mO)_pCH_2)_mC(=O)NH(CH_2)_m^{**}-$, $-^*(CH_2)_mC(R_3)_2^{**}-$, y $-^*(CH_2)_mC(R_3)_2SS(CH_2)_mNHC(=O)(CH_2)_m^{**}-$, donde el * de L₂ indica el punto de unión a L₁ y el ** de L₂ indica el punto de unión a R₈;

y en donde:

cada R₃ es independientemente seleccionado entre H y alquilo C₁-C₆;

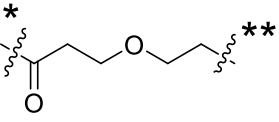
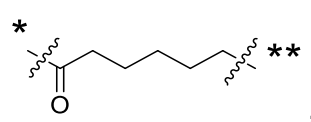
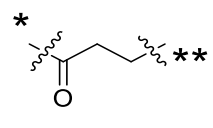
cada m es independientemente seleccionado entre 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, y

cada p es independientemente seleccionado entre 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y 14.

[00174] Forma de realización 28. El compuesto de cualquiera de las Formas de Realización 1 a 25, en donde L₂ es $-^*C(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m^{**}-$ o $-^*C(=O)(CH_2)_m^{**}-$, donde el * de L₂ indica el punto de unión a L₁ y el ** de L₂ indica el punto de unión a R₈,

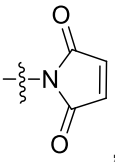
y en donde cada m es independientemente seleccionado entre 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 y p es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14.

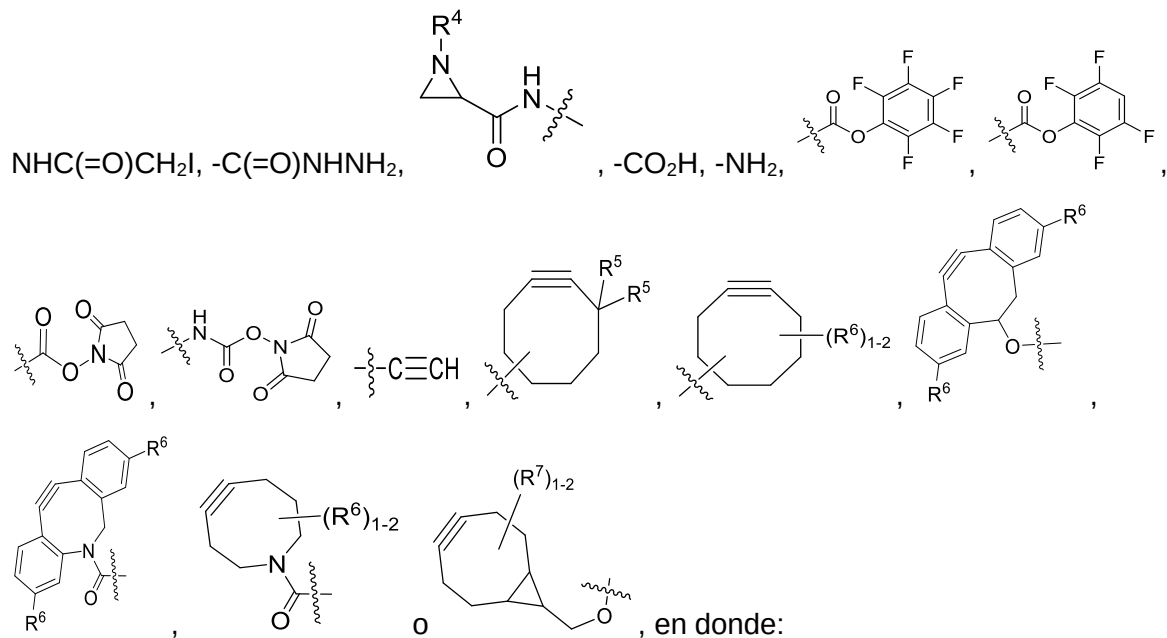
[00175] Forma de realización 29. El compuesto de cualquiera de las Formas de

Realización 1 a 25, en donde L₂ es  ,  , o  , donde el * de L₂ indica el punto de unión a L₁ y el ** de L₂ indica el punto de unión a R₈.

, donde el * de L₂ indica el punto de unión a L₁ y el ** de L₂ indica el punto de unión a R₈.

[00176] Forma de realización 30. El compuesto de cualquiera de las Formas de

Realización 1 a 29, en donde R⁸ es  , -N₃, -ONH₂, -NR⁴C(=O)CH=CH₂, SH, -SSR¹³, -S(=O)₂(CH=CH₂), -NR⁴S(=O)₂(CH=CH₂), -NR⁴C(=O)CH₂Br, -NR⁴C(=O)CH₂I, -NHC(=O)CH₂Br, -



cada R^4 es independientemente seleccionado entre H y alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$;

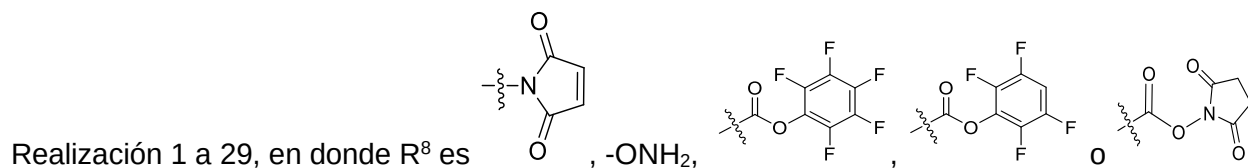
cada R^5 es independientemente seleccionado entre H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$, F, Cl, y $-\text{OH}$;

cada R^6 es independientemente seleccionado entre H, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$, F, Cl, $-\text{NH}_2$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$ y $-\text{OH}$,

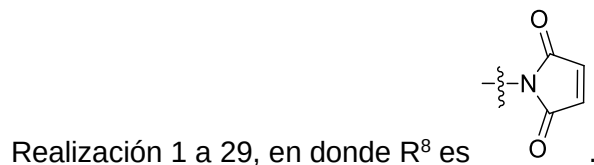
y

cada R^7 es independientemente seleccionado entre H, alquilo C_{1-6} , fluoro, benciloxi sustituido con $-\text{C(=O)OH}$, bencilo sustituido con $-\text{C(=O)OH}$, C_{1-4} alcoxi sustituido con $-\text{C(=O)OH}$ y alquilo C_{1-4} sustituido con $-\text{C(=O)OH}$.

[00177] Forma de realización 31. El compuesto de cualquiera de las Formas de



[00178] Forma de realización 32. El compuesto de cualquiera de las Formas de



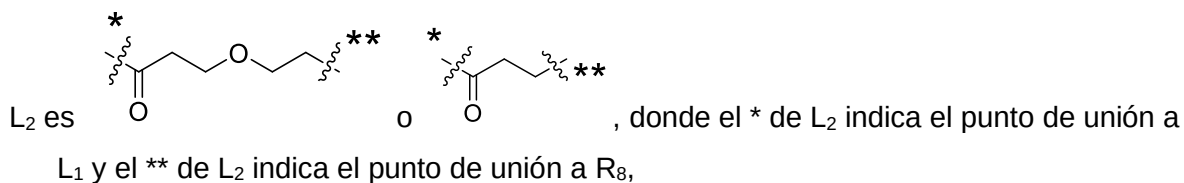
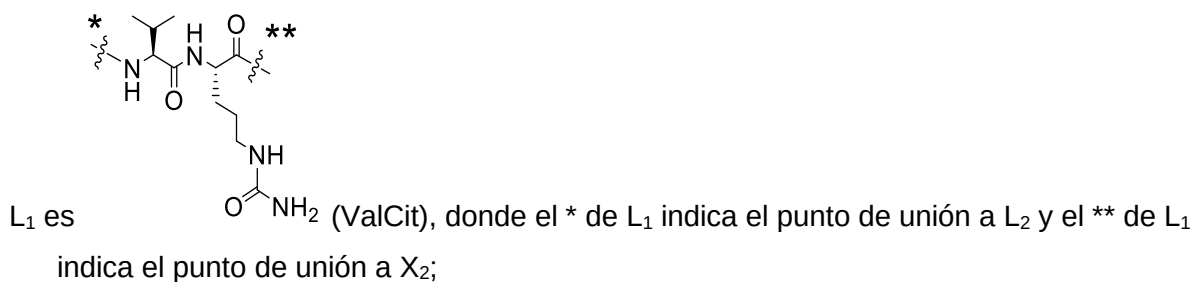
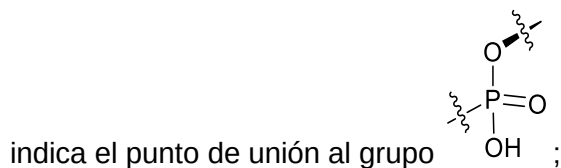
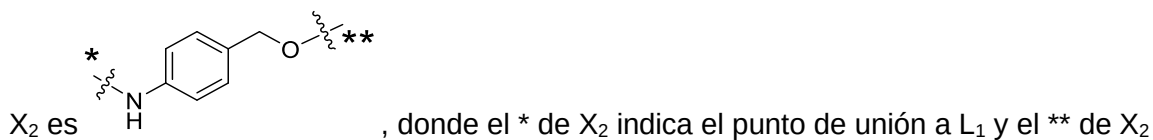
[00179] Forma de realización 33. El compuesto de la Fórmula (B-2) de la Forma de realización 8, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

en donde:

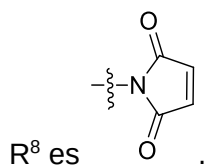
R⁰ es metilo o etilo;

R¹ es metilo o isopropilo;

R² es metilo o etilo;



y



[00180] Forma de realización 34. El compuesto de la Fórmula (B-3) de la Forma de realización 12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

en donde:

R⁰ es metilo o etilo;

R¹ es metilo o isopropilo;

R² es metilo o etilo;

X₂ es , donde el * de X₂ indica el punto de unión a L₁ y el ** de X₂

indica el punto de unión al grupo

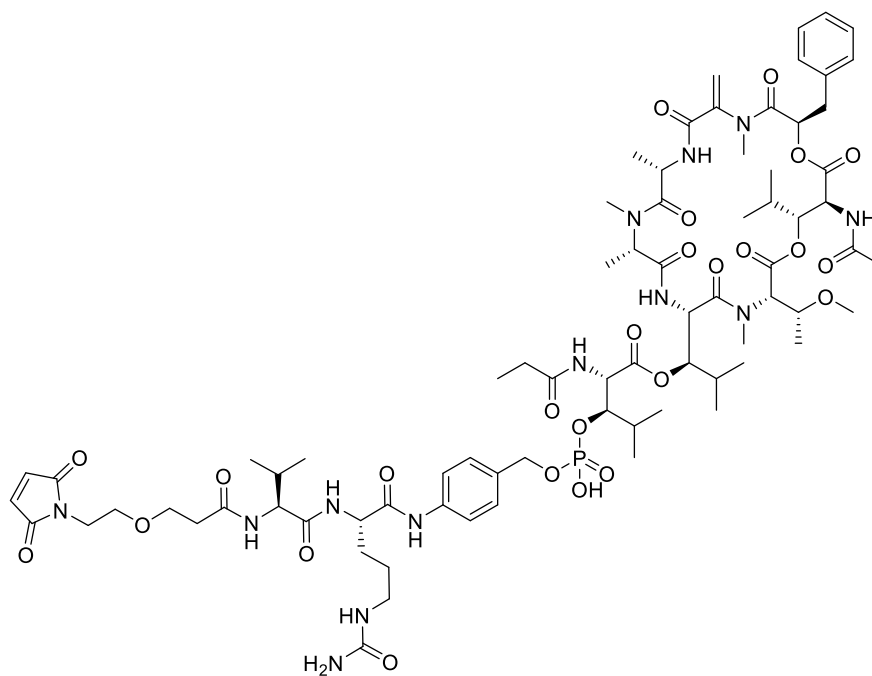
L₁ es (ValCit), donde el * de L₁ indica el punto de unión a L₂ y el ** de L₁ indica el punto de unión a X₂;

L₂ es o , donde el * de L₂ indica el punto de unión a L₁ y el ** de L₂ indica el punto de unión a R₈,

y

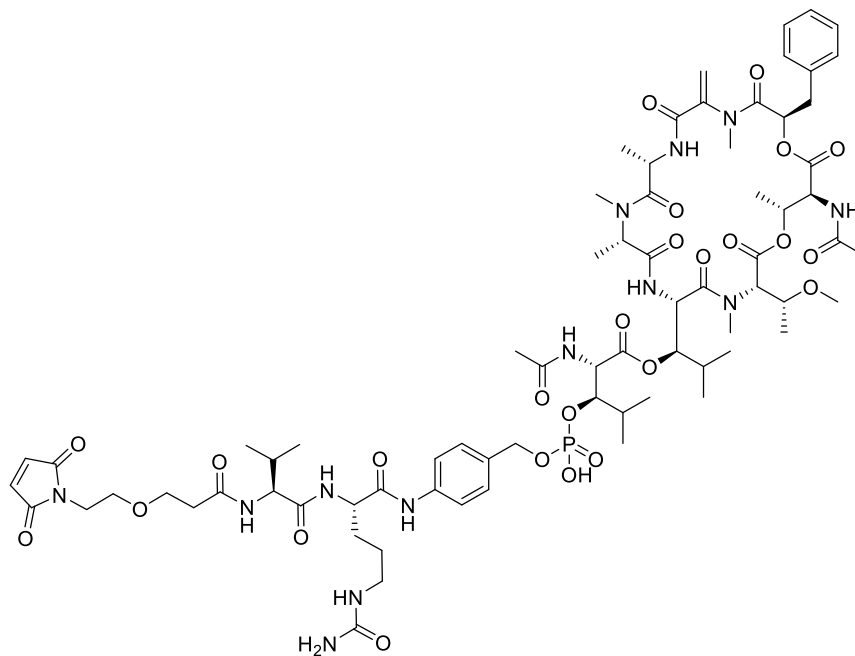
R⁸ es .

[00181] Forma de realización 35. El compuesto de la Fórmula (B), la Fórmula (B-1) o la Fórmula (B-2), en donde el compuesto es



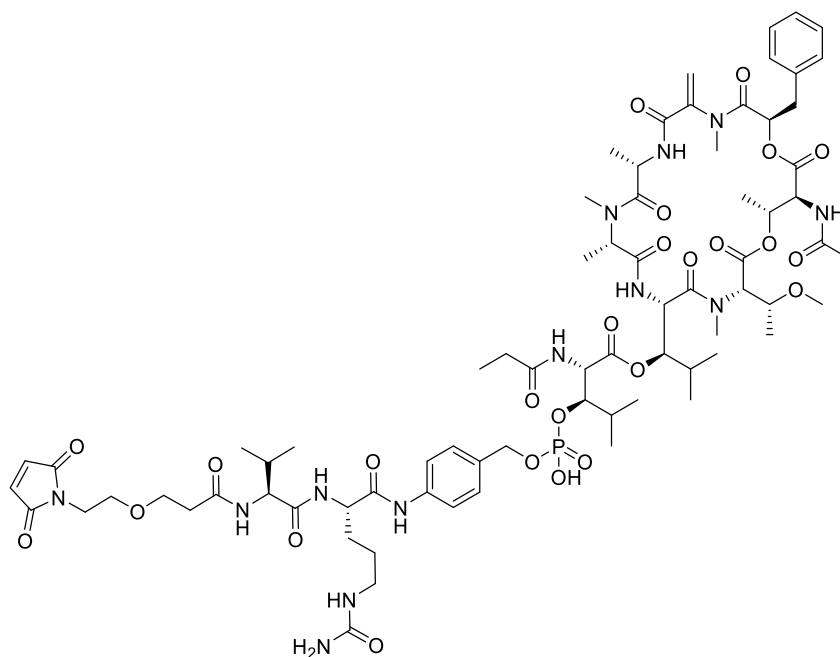
(B1).

[00182] Forma de realización 36. El compuesto de la Fórmula (B), la Fórmula (B-1) o la Fórmula (B-2), en donde el compuesto es



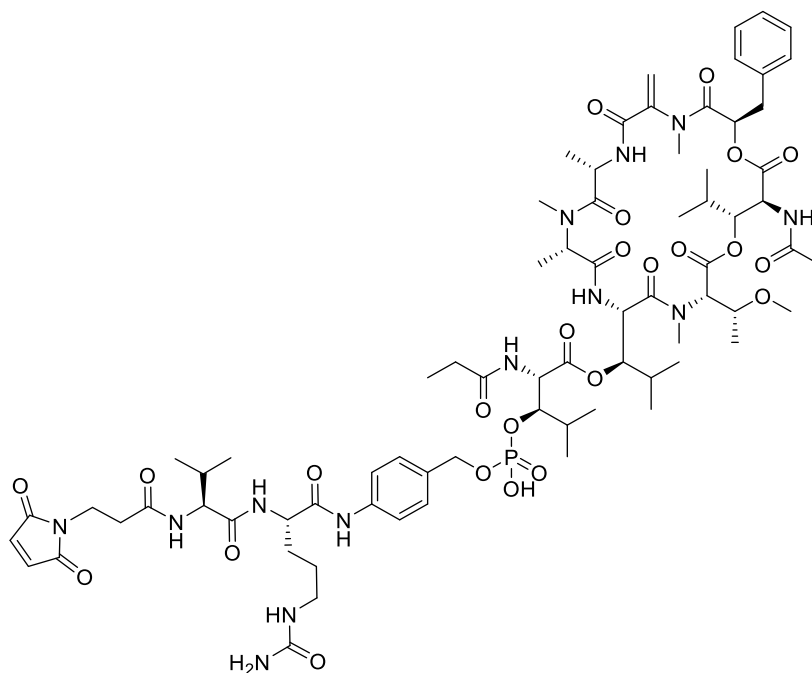
(B2).

[00183] Forma de realización 37. El compuesto de la Fórmula (B), la Fórmula (B-1) o la Fórmula (B-2), en donde el compuesto es



(B3).

[00184] Forma de realización 38. El compuesto de la Fórmula (B), la Fórmula (B-1) o la Fórmula (B-2), en donde el compuesto es



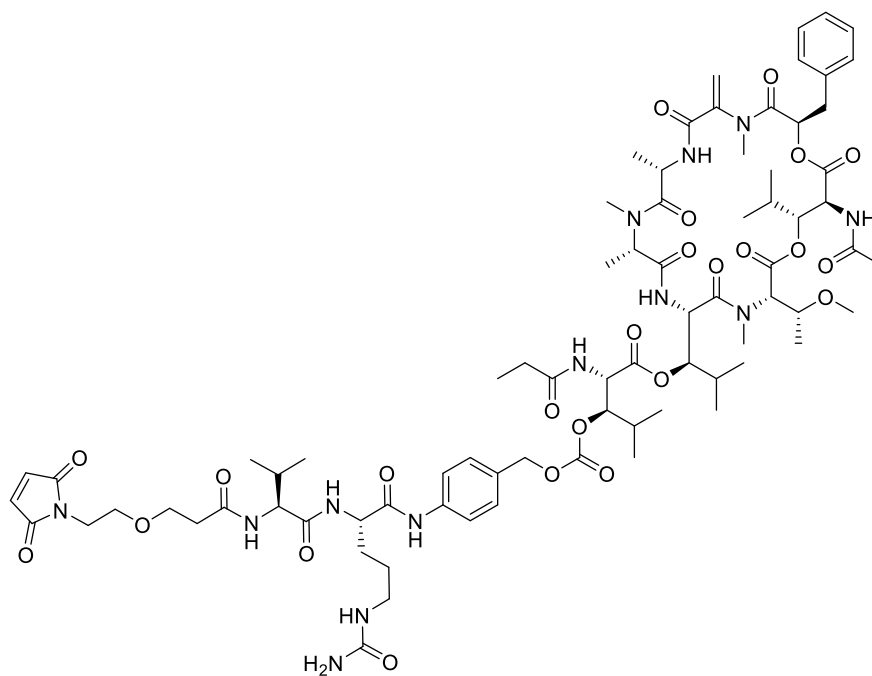
(B4).

[00185] Forma de realización 39. El compuesto de la Fórmula (B), la Fórmula (B-1) o la Fórmula (B-2), en donde el compuesto es

[illegible]

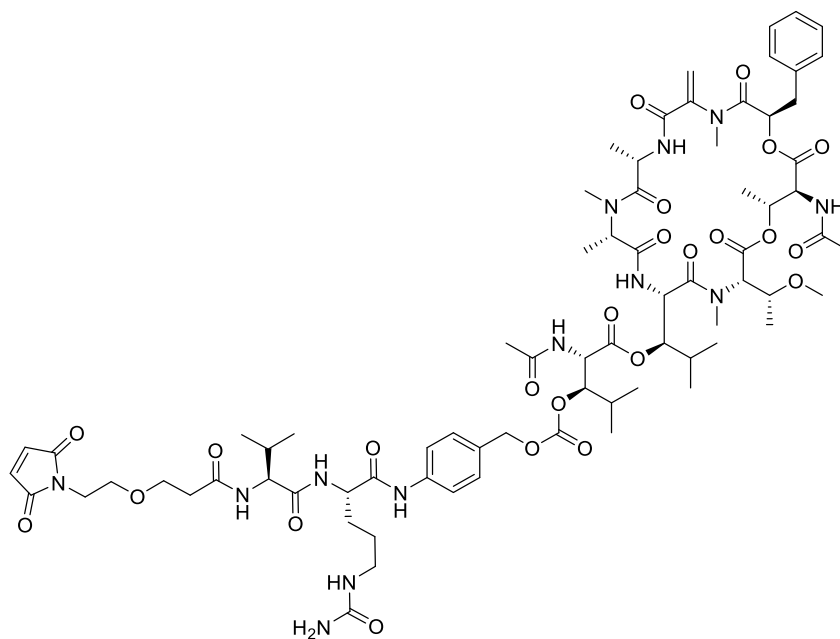
(B6).

75



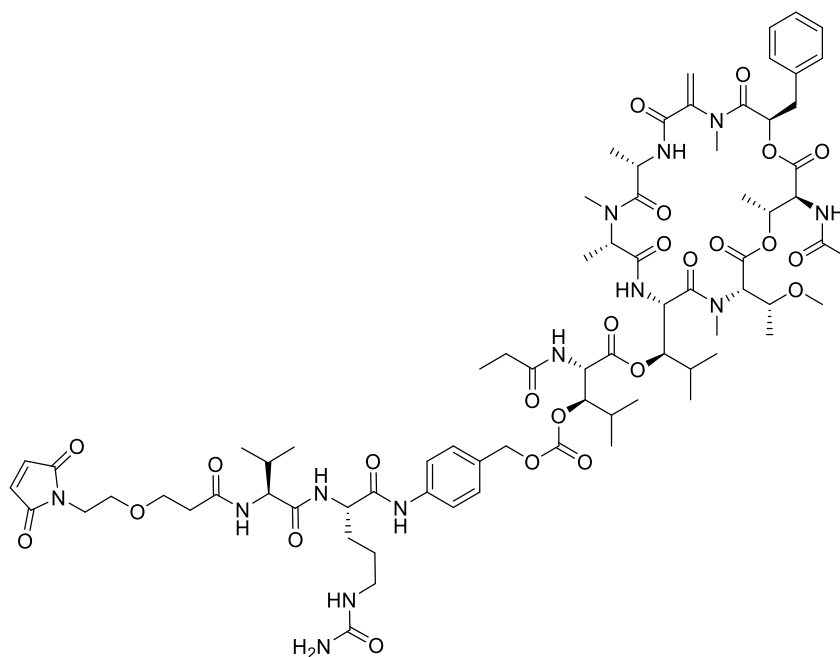
(B7).

[00188] Forma de realización 42. El compuesto de la Fórmula (B), la Fórmula (B-1) o la Fórmula (B-3), en donde el compuesto es



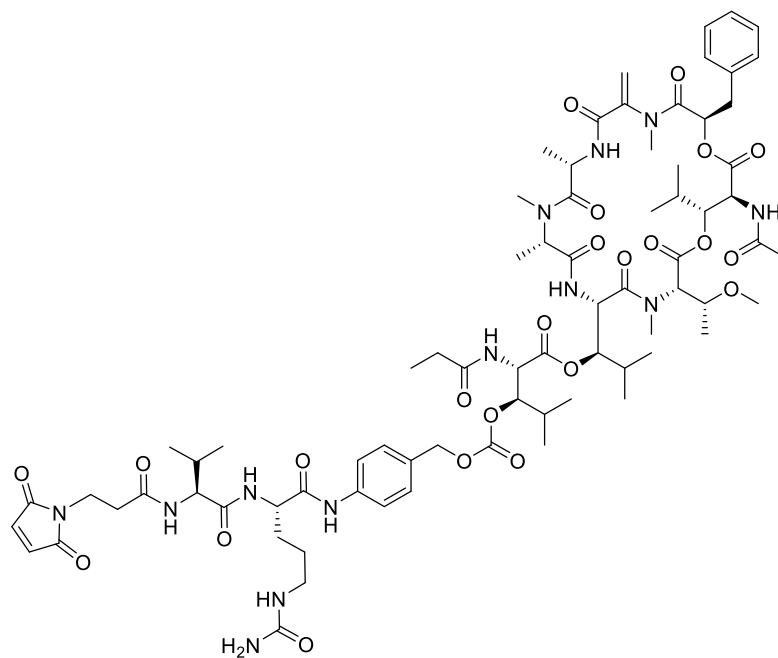
(B8).

[00189] Forma de realización 43. El compuesto de la Fórmula (B), la Fórmula (B-1) o la Fórmula (B-3), en donde el compuesto es



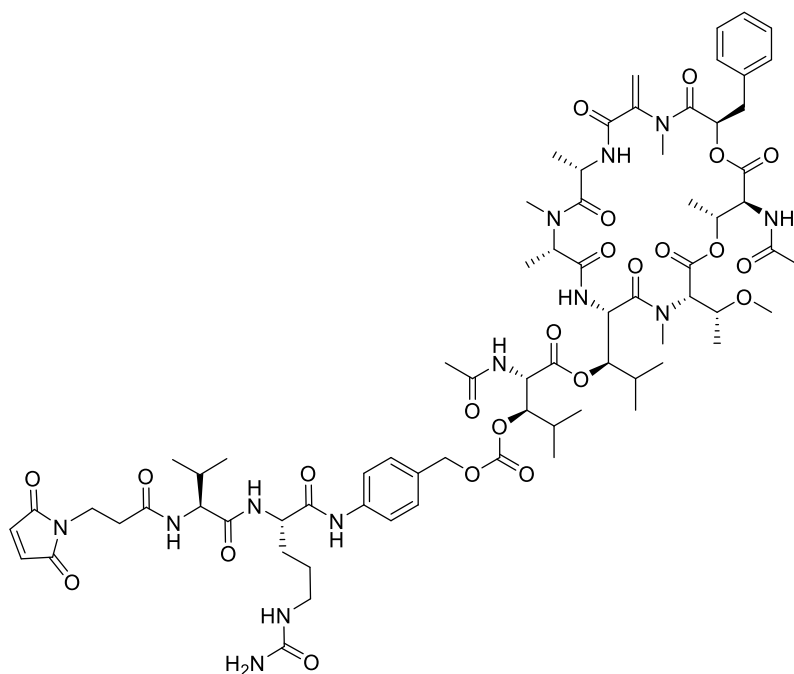
(B9).

[00190] Forma de realización 44. El compuesto de la Fórmula (B), la Fórmula (B-1) o la Fórmula (B-3), en donde el compuesto es



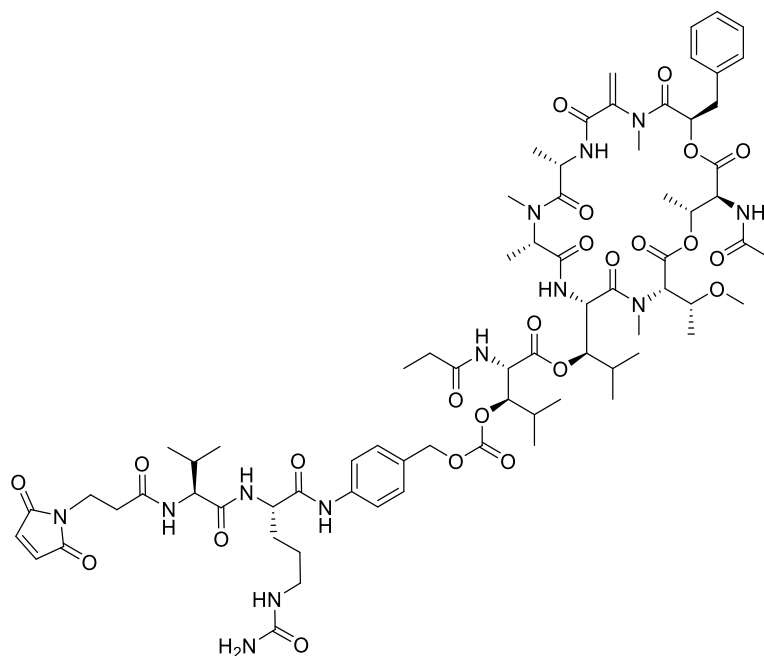
(B10).

[00191] Forma de realización 45. El compuesto de la Fórmula (B), la Fórmula (B-1) o la Fórmula (B-3), en donde el compuesto es



(B11).

[00192] Forma de realización 46. El compuesto de la Fórmula (B), la Fórmula (B-1) o la Fórmula (B-3), en donde el compuesto es



(B12).

Conjugado de Anticuerpo Fármacos

[00193] En un aspecto, el Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención es un conjugado de la Fórmula (C):



en donde:

D es un resto de fármaco;

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana;

L_A es un enlazador;

n es 1, 2, 3 o 4, y

y es 1, 2, 3 o 4,

en donde el resto Enlazador-Fármaco (L_A-(D)_n) está covalentemente unido al anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.

[00194] En un aspecto, el Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la invención tiene la estructura de la Fórmula (C), en donde:

D es un inhibidor de GNAQ, un inhibidor de GNA11 o un inhibidor de GNAQ y GNA11;

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana;

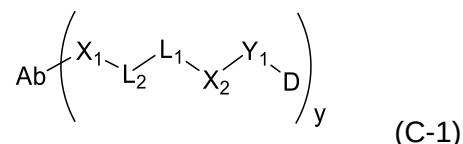
L_A es un enlazador escindible que comprende uno o más componentes enlazadores seleccionados entre un espaciador autoinmolativo, un grupo fosfato, un grupo carbonato y un enlazador peptídico bivalente;

n es 1, 2, 3 o 4, y

y es 1, 2, 3 o 4,

en donde el resto Enlazador-Fármaco (L_A-(D)_n) está covalentemente unido al anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo.

[00195] En un aspecto, el Conjugado de Anticuerpo Fármaco de la Fórmula (C) es un conjugado de la Fórmula (C-1):



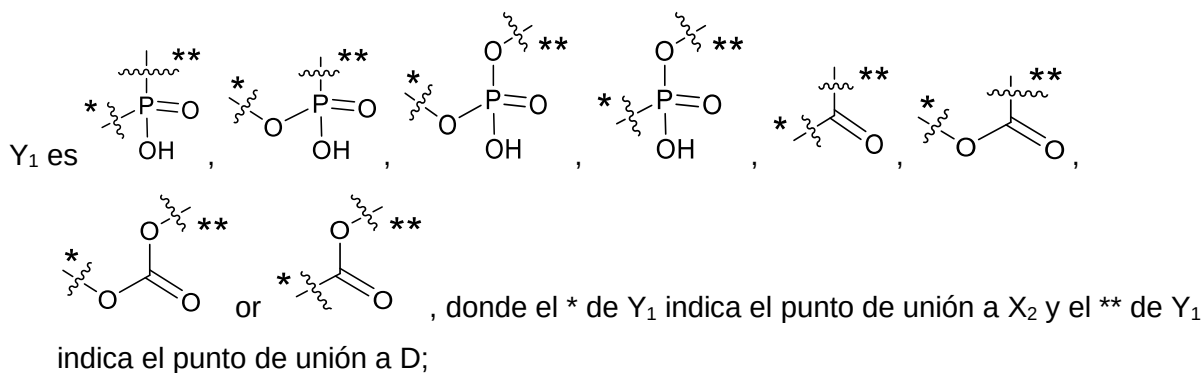
en donde:

D es un inhibidor de GNAQ, un inhibidor de GNA11 o un inhibidor de GNAQ y GNA11;

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana;

X₁ es un grupo de acoplamiento bivalente;

X₂ es un espaciador autoinmolativo;



L₁ es un enlazador peptídico bivalente;

L₂ es un enlace o un enlazador, y

y es 1, 2, 3 o 4.

[00196] En los conjugados de la Fórmula (C), uno o más restos Enlazador-Fármaco (L_B-(D)_n) pueden estar covalentemente unidos al anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, Ab, por medio de lo cual une covalentemente uno o más restos de fármaco, D, al anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, Ab, a través del enlazador, L_A. L_A es cualquier resto químico capaz de enlazar el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, Ab, a uno o más restos de fármaco, D. Los conjugados de la Fórmula (C), en donde uno o más restos de fármaco, D, están covalentemente unidos a un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, Ab, pueden formarse usando un reactivo enlazador bifuncional o multifuncional que tiene uno o más grupos funcionales reactivos que son iguales o diferentes. Uno de los grupos funcionales reactivos del reactivo enlazador bifuncional o multifuncional se usa para reaccionar con un grupo en el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, Ab, a modo de ejemplo, un tiol o una amina (por ejemplo, una cisteína, un N-terminal o una cadena lateral de aminoácidos como lisina) para formar un enlace covalente con un extremo del enlazador L_A. Tales grupos funcionales reactivos del reactivo enlazador bifuncional o multifuncional incluyen, pero no se limitan a, una maleimida, un tiol y un éster de NHS. El otro grupo o grupos funcionales reactivos del reactivo enlazador bifuncional o multifuncional se usan para unir covalentemente uno o más restos de fármaco, D, al enlazador L_A.

[00197] En un aspecto, L_A es un enlazador escindible. En otro aspecto, L_A es un enlazador no escindible. En algunos aspectos, L_A es un enlazador ácido-lábil, enlazador fotolábil, enlazador escindible con peptidasa, enlazador escindible con esterasa, enlazador escindible con glucosidasa, enlazador escindible con fosfodiesterasa, un enlazador reducible con un enlace disulfuro, un enlazador hidrófilo o un enlazador a base de ácido dicarboxílico.

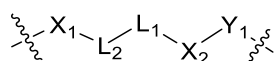
[00198] En un aspecto, L_A es un enlazador escindible que comprende uno o más componentes enlazadores seleccionados entre un espaciador autoinmolativo, un grupo fosfato, un grupo carbonato y un enlazador peptídico bivalente.

[00199] En un aspecto, L_A es un enlazador escindible que comprende uno o más componentes enlazadores seleccionados entre un espaciador autoinmolativo, un grupo fosfato, un grupo carbonato, un enlazador péptido bivalente y un grupo de acoplamiento bivalente.

[00200] En un aspecto, L_A es un enlazador escindible que comprende uno o más componentes enlazadores seleccionados entre un espaciador autoinmolativo, un grupo fosfato y un enlazador péptido bivalente.

[00201] En un aspecto, L_A es un enlazador escindible que comprende uno o más componentes enlazadores seleccionados entre un espaciador autoinmolativo, un grupo fosfato, un enlazador péptido bivalente y un grupo de acople bivalente.

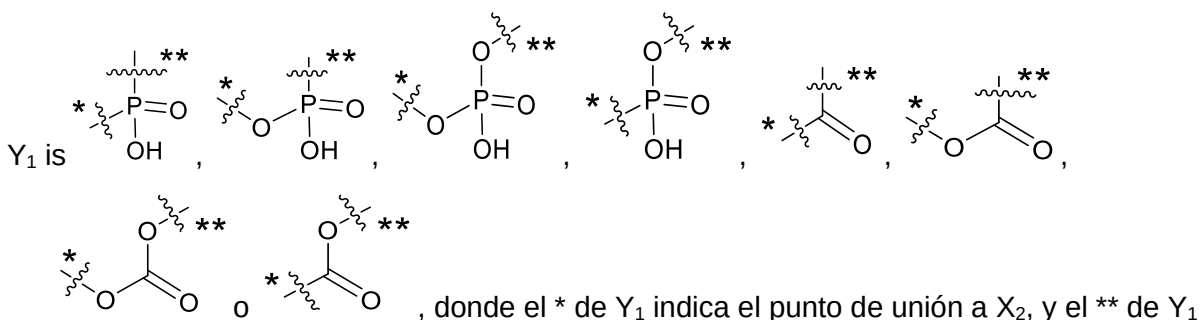
[00202] En otro aspecto, el enlazador (L_A) tiene la siguiente fórmula:



en donde:

X_1 es un grupo de acoplamiento bivalente;

X_2 es un espaciador autoinmolativo;

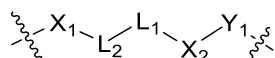


indica el otro punto de unión;

L_1 es un enlazador peptídico bivalente, y

L_2 es un enlace o un enlazador.

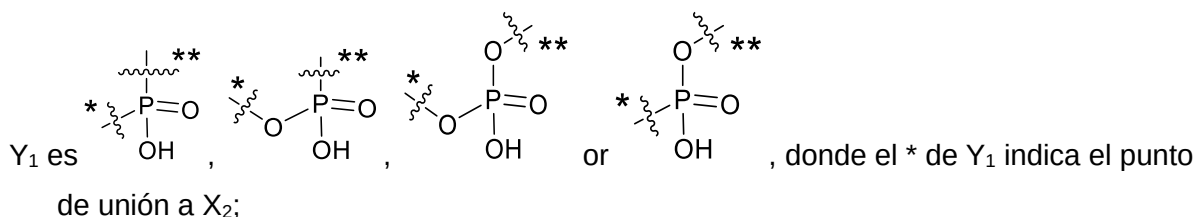
[00203] En otro aspecto, el enlazador (L_A) tiene la siguiente fórmula:



en donde:

X_1 es un grupo de acoplamiento bivalente;

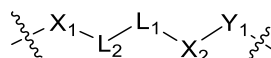
X_2 es un espaciador autoinmolativo;



L₁ es un enlazador peptídico bivalente, y

L₂ es un enlace o un enlazador.

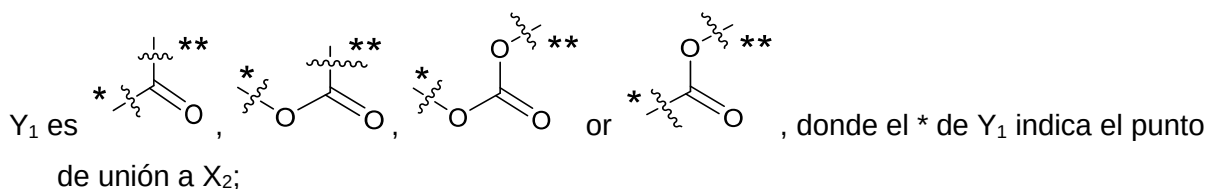
[00204] En otro aspecto, el enlazador (L_A) tiene la siguiente fórmula:



en donde:

X₁ es un grupo de acoplamiento bivalente;

X₂ es un espaciador autoinmolativo;



L₁ es un enlazador peptídico bivalente, y

L₂ es un enlace o un enlazador.

[00205] Si bien la relación fármaco/anticuerpo tiene un valor entero exacto para una molécula de conjugado específica (por ejemplo, el producto de n e y en la Fórmula (C), se entiende que el valor a menudo será un valor promedio cuando se use para describir un muestra que contiene muchas moléculas, debido a cierto grado de heterogeneidad, típicamente asociada con la etapa de conjugación. La carga promedio para una muestra de un conjugado se denomina en la presente relación fármaco/anticuerpo, o "DAR." En algunos aspectos, la DAR oscila entre aproximadamente 1 y aproximadamente 5, y típicamente es de aproximadamente 1, 2, 3, o 4. En algunos aspectos, por lo menos 50% de una muestra en peso es un compuesto que tiene una DAR promedio más o menos 2, y preferiblemente por lo menos 50% de la muestra es un conjugado que contiene la DAR promedio más o menos 1. Otros aspectos incluyen conjugados en donde la DAR es de aproximadamente 2. En algunos aspectos, una DAR de 'aproximadamente y' significa que el valor medido para DAR está dentro del 20% del producto de n e y en la Fórmula (I). En algunos aspectos, una DAR de 'aproximadamente n' significa que el valor medido para DAR está dentro del 20% de n en la Fórmula (II).

[00206] En un aspecto, la relación molar promedio del fármaco al anticuerpo en los conjugados de la Fórmula (C) (*es decir*, el valor promedio del producto de n e y , también conocida como relación de fármaco a anticuerpo (DAR)) oscila entre aproximadamente 1 y aproximadamente 10, entre aproximadamente 1 y aproximadamente 6 (*por ejemplo*, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9, 3,0, 3,1, 3,2, 3,3, 3,4, 3,5, 3,6, 3,7, 3,8, 3,9, 4,0, 4,1, 4,2, 4,3, 4,4, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9, 5,0, 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0), entre aproximadamente 1 y aproximadamente 5, entre aproximadamente 1,5 y aproximadamente 4,5, o entre aproximadamente 2 y aproximadamente 4.

[00207] En un aspecto de acuerdo con la invención, el conjugado tiene una pureza sustancialmente alta y tiene una o más de las siguientes características: (a) más que aproximadamente 90% (*por ejemplo*, más que o tanto como aproximadamente 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100%), preferentemente más que aproximadamente 95%, de las especies del conjugado son monoméricas, (b) el nivel de enlazador sin conjuguar en la preparación del conjugado es menor que aproximadamente 10% (*por ejemplo*, menos que o tanto como aproximadamente 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, o 0%) (con relación al enlazador total), (c) menos que 10% de las especies del conjugado están entrecruzadas (*por ejemplo*, menos que o tanto como aproximadamente 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, o 0%), (d) el nivel de fármaco libre (inhibidor de agregación de plaquetas inducido por ADP, *por ejemplo*, un inhibidor de GNAQ, un inhibidor de GNA11, o un inhibidor de GNAQ y GNA11) en la preparación del conjugado es menos que aproximadamente 2% (*por ejemplo*, menos que o tanto como aproximadamente 1,5%, 1,4%, 1,3%, 1,2%, 1,1%, 1,0%, 0,9%, 0,8%, 0,7%, 0,6%, 0,5%, 0,4%, 0,3%, 0,2%, 0,1%, o 0%) (mol/mol con relación al fármaco total).

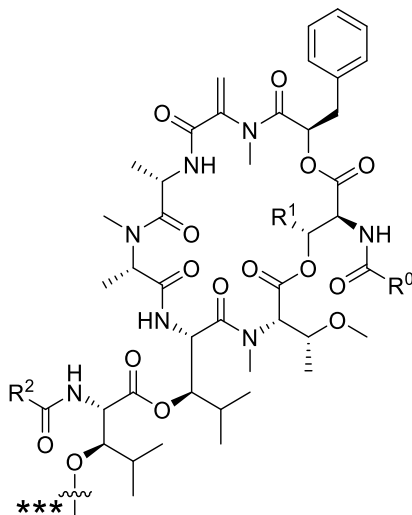
[00208] Ciertos aspectos y ejemplos del Conjugado de Anticuerpo Fármacos de la invención se proveen en la siguiente lista de formas de realización adicionales. Se reconocerá que las características especificadas en cada forma de realización pueden combinarse con otras características especificadas para proporcionar otras formas de realización de la presente invención.

[00209] Forma de realización 47. El conjugado de la Fórmula (C) o la Fórmula (C-1), en donde D es un inhibidor de GNAQ.

[00210] Forma de realización 48. El conjugado de la Fórmula (C) o la Fórmula (C-1), en donde D es un inhibidor de GNA11.

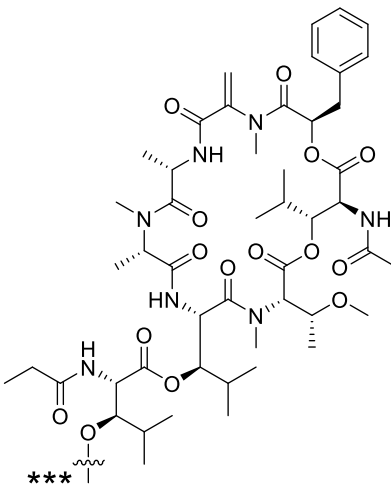
[00211] Forma de realización 49. El conjugado de la Fórmula (C) o la Fórmula (C-1), en donde D es un inhibidor de GNAQ y GNA11.

[00212] Forma de realización 50. El conjugado de la Fórmula (C) o la Fórmula (C-1), en donde D es



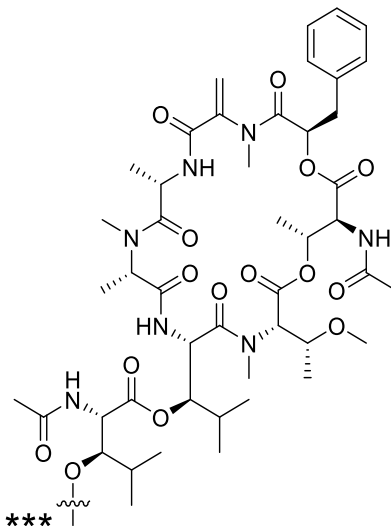
en donde R^0 es metilo o etilo, R_1 es metilo o isopropilo, R_2 es metilo o etilo, y el *** indica el punto de unión a L_A o Y_1 .

[00213] Forma de realización 51. El conjugado de la Fórmula (C) o la Fórmula (C-1), en donde D es



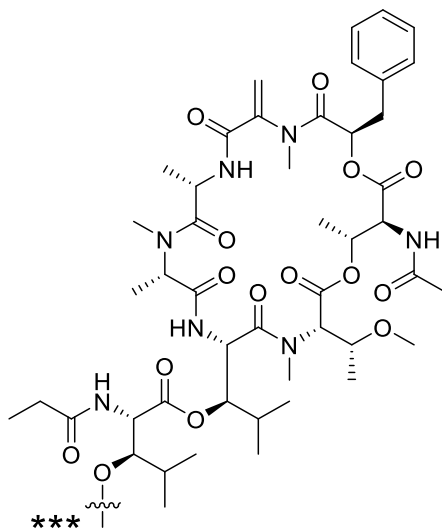
donde el *** indica el punto de unión a L_A o Y_1 .

[00214] Forma de realización 52. El conjugado de la Fórmula (C) o la Fórmula (C-1), en donde D es



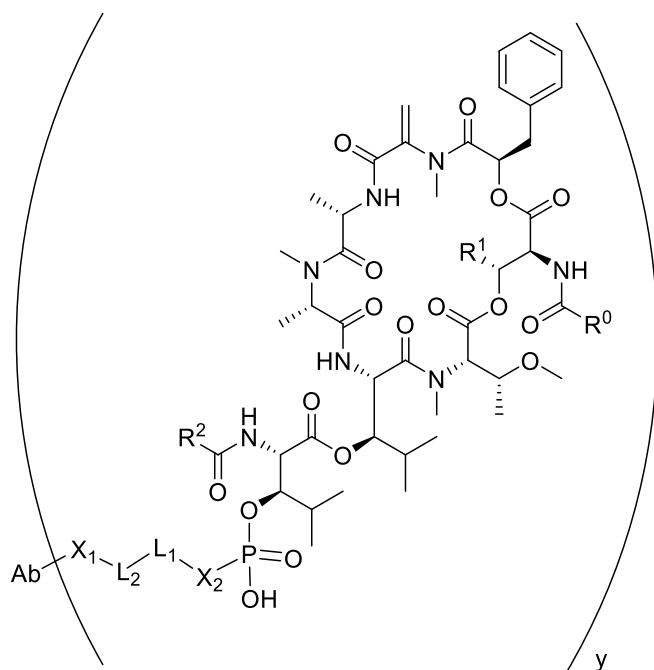
donde el *** indica el punto de unión a L_A o Y_1 .

[00215] Forma de realización 53. El conjugado de la Fórmula (C) o la Fórmula (C-1), en donde D es



donde el *** indica el punto de unión a L_A o Y_1 .

[00216] Forma de realización 54. El conjugado de la Fórmula (C) o la Fórmula (C-1), que tiene la estructura de la Fórmula (C-2):



(C-2),

en donde:

R⁰ es metilo o etilo;

R¹ es metilo o isopropilo;

R² es metilo o etilo;

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana;

X₁ es un grupo de acoplamiento bivalente;

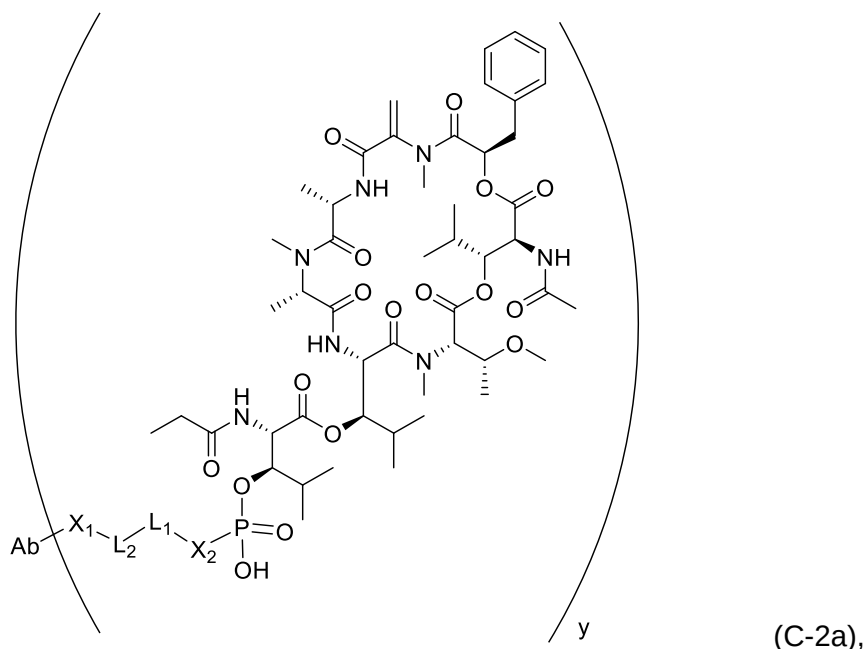
X₂ es un espaciador autoinmolativo;

L₁ es un enlazador peptídico bivalente;

L₂ es un enlace o un enlazador, y

y es 1, 2, 3 o 4.

[00217] Forma de realización 55. El conjugado de la Fórmula (C) o la Fórmula (C-1), que tiene la estructura de la Fórmula (C-2a):



en donde:

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana;

X₁ es un grupo de acoplamiento bivalente;

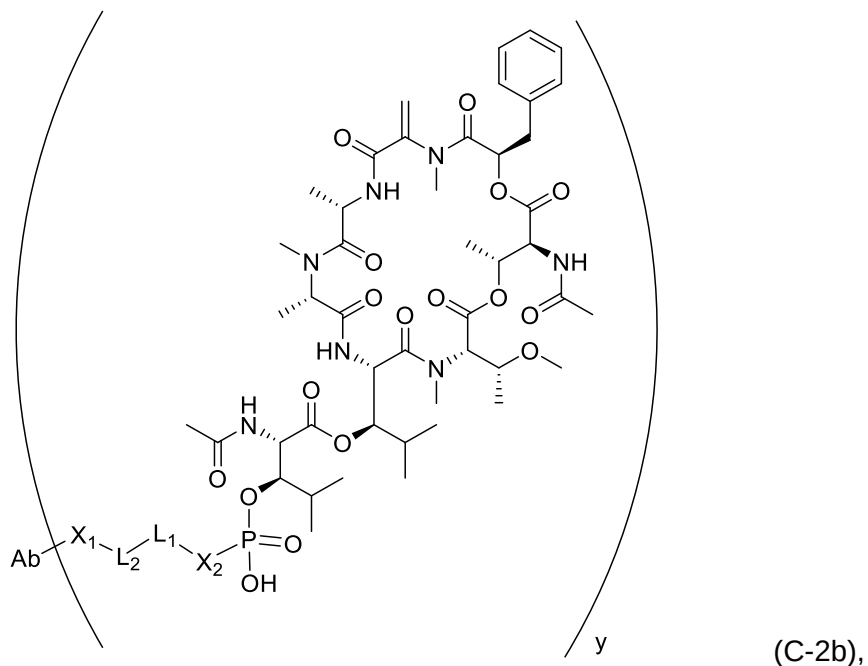
X₂ es un espaciador autoinmolativo;

L₁ es un enlazador peptídico bivalente;

L₂ es un enlace o un enlazador, y

y es 1, 2, 3 o 4.

[00218] Forma de realización 56. El conjugado de la Fórmula (C) o la Fórmula (C-1), que tiene la estructura de la Fórmula (C-2b):



en donde:

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana;

X₁ es un grupo de acoplamiento bivalente;

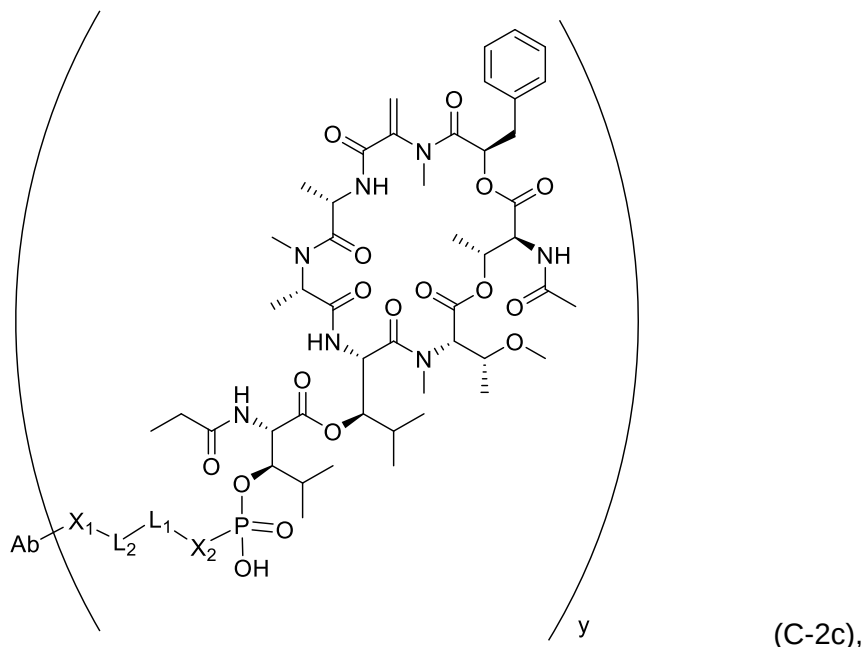
X₂ es un espaciador autoinmolativo;

L₁ es un enlazador peptídico bivalente;

L₂ es un enlace o un enlazador, y

y es 1, 2, 3 o 4.

[00219] Forma de realización 57. El conjugado de la Fórmula (C) o la Fórmula (C-1), que tiene la estructura de la Fórmula (C-2c):



en donde:

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana;

X₁ es un grupo de acoplamiento bivalente;

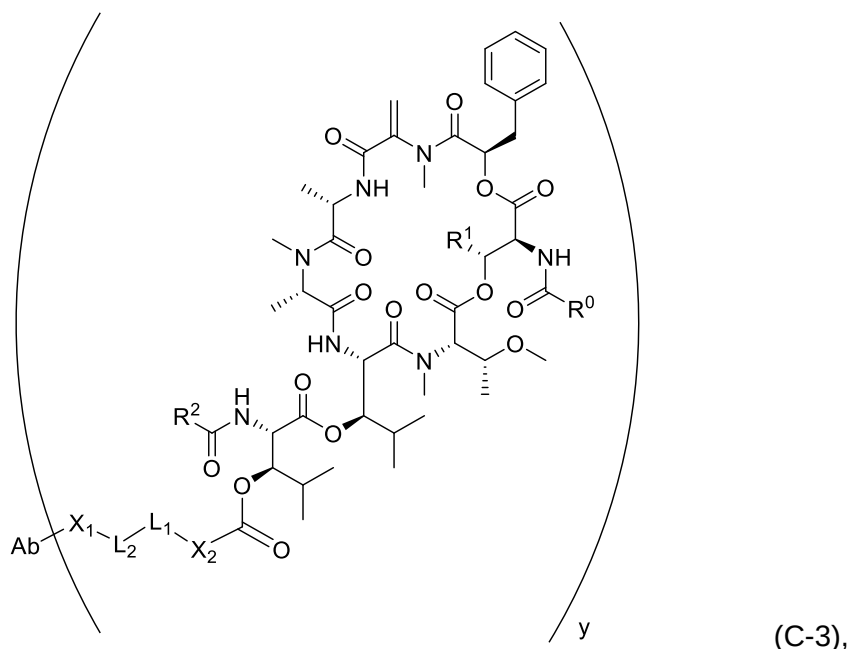
X₂ es un espaciador autoinmolativo;

L₁ es un enlazador peptídico bivalente;

L₂ es un enlace o un enlazador, y

y es 1, 2, 3 o 4.

[00220] Forma de realización 58. El conjugado de la Fórmula (C) o la Fórmula (C-1), que tiene la estructura de la Fórmula (C-3):



en donde:

R⁰ es metilo o etilo;

R¹ es metilo o isopropilo;

R² es metilo o etilo;

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana;

X₁ es un grupo de acoplamiento bivalente;

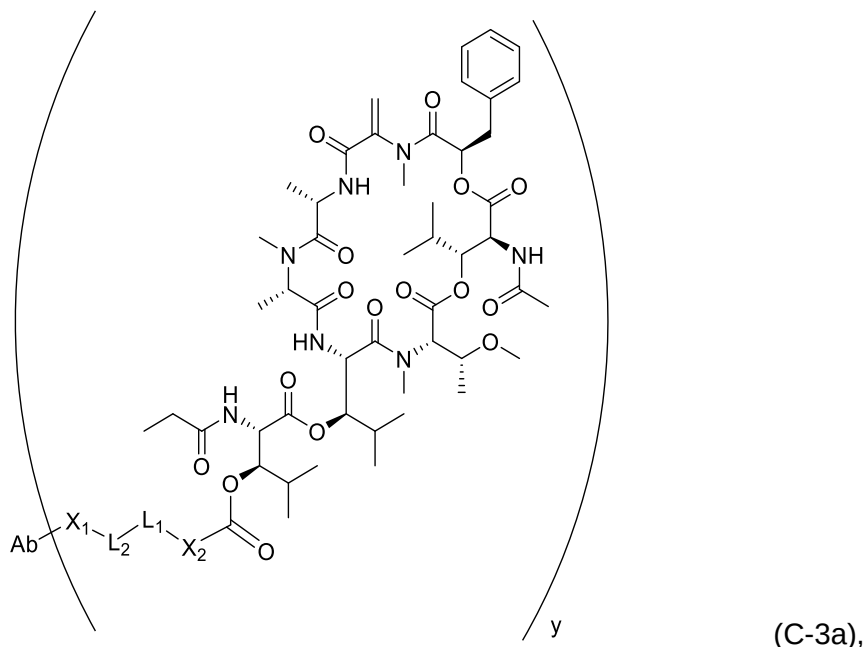
X₂ es un espaciador autoinmolativo;

L₁ es un enlazador peptídico bivalente;

L₂ es un enlace o un enlazador, y

y es 1, 2, 3 o 4.

[00221] Forma de realización 59. El conjugado de la Fórmula (C) o la Fórmula (C-1), que tiene la estructura de la Fórmula (C-3a):



en donde:

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana;

X₁ es un grupo de acoplamiento bivalente;

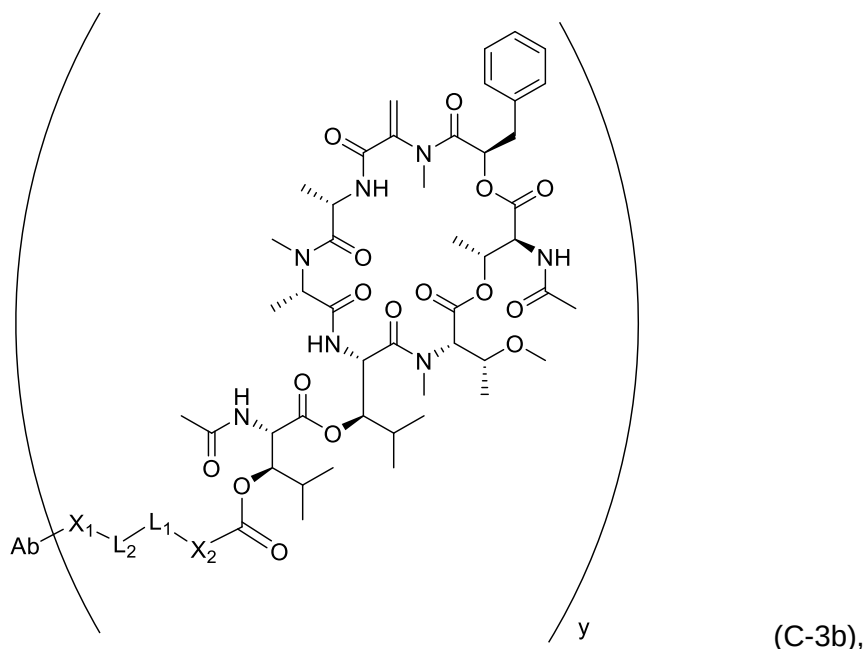
X₂ es un espaciador autoinmolativo;

L₁ es un enlazador peptídico bivalente;

L₂ es un enlace o un enlazador, y

y es 1, 2, 3 o 4.

[00222] Forma de realización 60. El conjugado de la Fórmula (C) o la Fórmula (C-1), que tiene la estructura de la Fórmula (C-3b):



en donde:

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana;

X₁ es un grupo de acoplamiento bivalente;

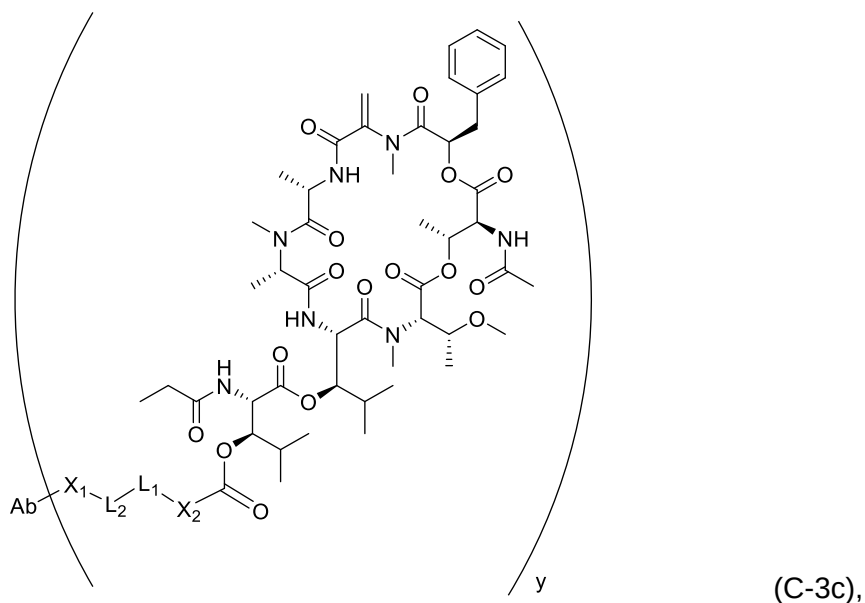
X₂ es un espaciador autoinmolativo;

L₁ es un enlazador peptídico bivalente;

L₂ es un enlace o un enlazador, y

y es 1, 2, 3 o 4.

[00223] Forma de realización 61. El conjugado de la Fórmula (C) o la Fórmula (C-1), que tiene la estructura de la Fórmula (C-3c):



en donde:

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana;

X₁ es un grupo de acoplamiento bivalente;

X₂ es un espaciador autoinmolativo;

L₁ es un enlazador peptídico bivalente;

L₂ es un enlace o un enlazador, y

y es 1, 2, 3 o 4.

[00224] Forma de realización 62. El conjugado de la Fórmula (C-2) de la Forma de realización 54 o El conjugado de la Fórmula (C-3) de la Forma de realización 58:

en donde:

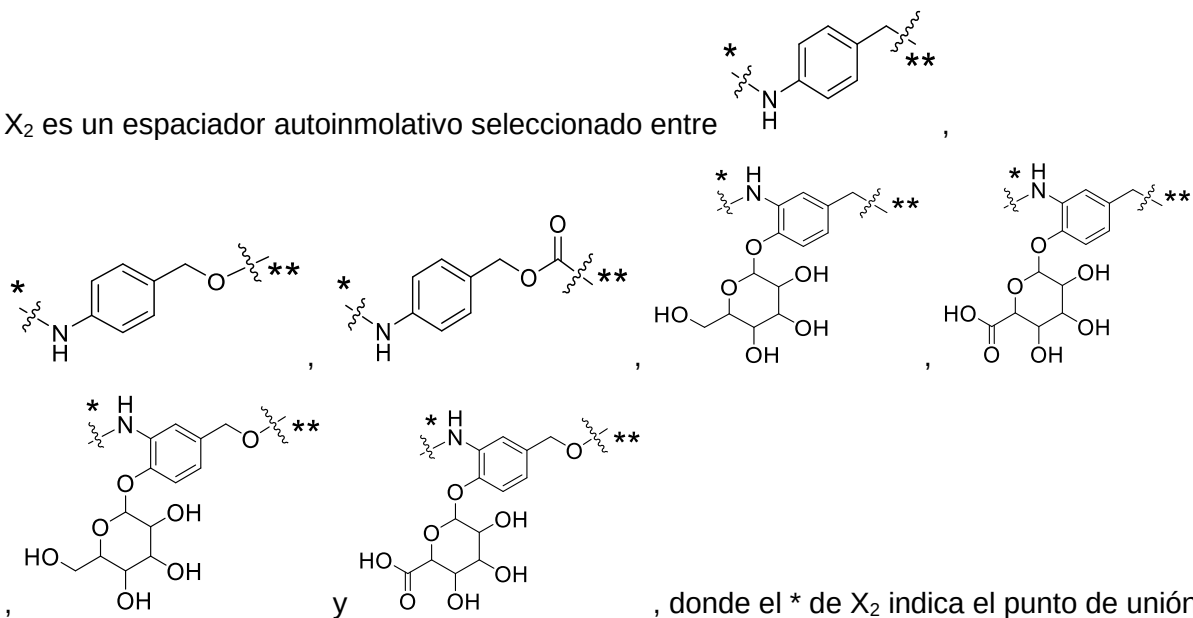
R⁰ es metilo o etilo;

R¹ es metilo o isopropilo;

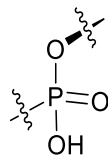
R² es metilo o etilo;

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana;

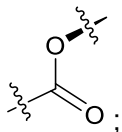
X₂ es un espaciador autoinmolativo seleccionado entre



a L₁ y el ** de X₂ indica el punto de unión al grupo



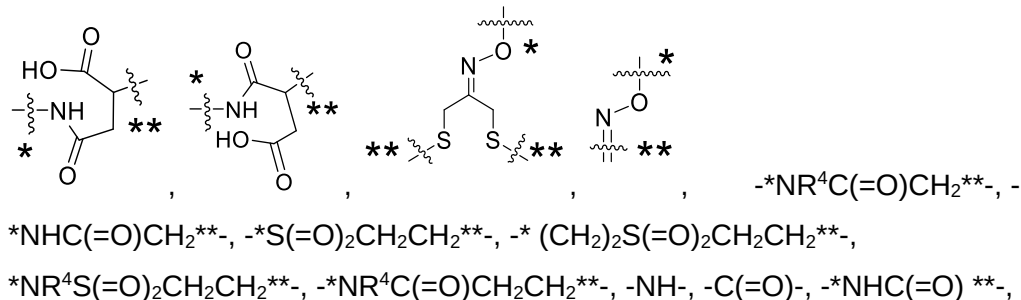
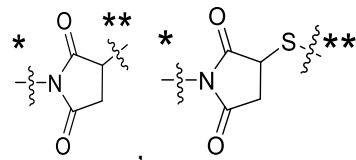
o el punto de unión al grupo

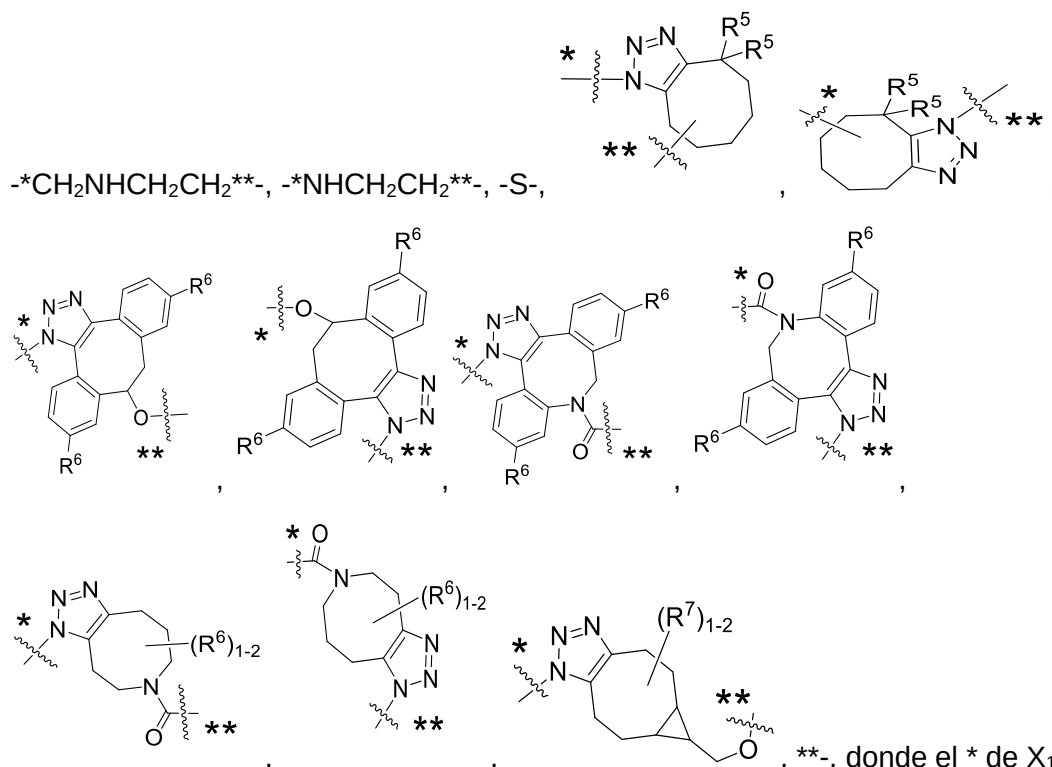


L₁ es un enlazador peptídico bivalente que comprende 2 a 4 residuos de aminoácidos;

L₂ es un enlazador;

X₁ es un grupo de acoplamiento bivalente seleccionado entre





el punto de unión a L_2 y el $**$ de X_1 indica el punto de unión a Ab ;

y en donde:

cada R^4 es independientemente seleccionado entre H y alquilo C_1 - C_6 ;

cada R^5 es independientemente seleccionado entre H, alquilo C_1 - C_6 , F, Cl, y $-\text{OH}$;

cada R^6 es independientemente seleccionado entre H, alquilo C_1 - C_6 , F, Cl, $-\text{NH}_2$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$ y $-\text{OH}$,

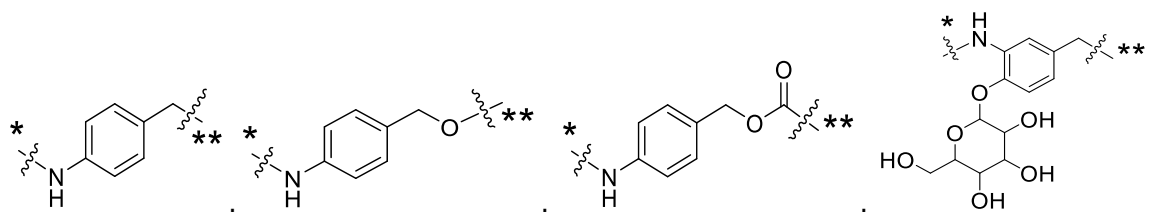
y

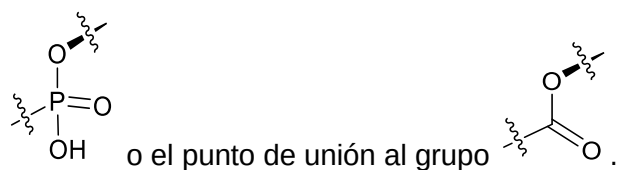
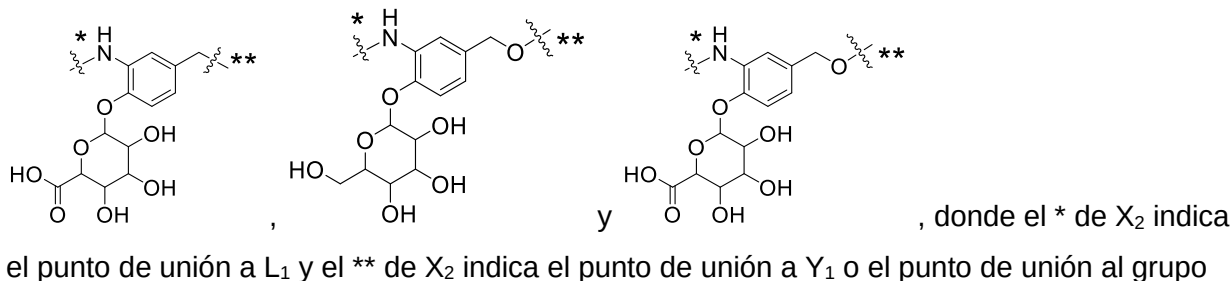
cada R^7 es independientemente seleccionado entre H, alquilo C_{1-6} , fluoro, benciloxi sustituido con $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$, bencilo sustituido con $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$, C_{1-4} alcoxi sustituido con $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$ y alquilo C_{1-4} sustituido con $-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$,

y

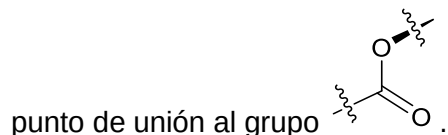
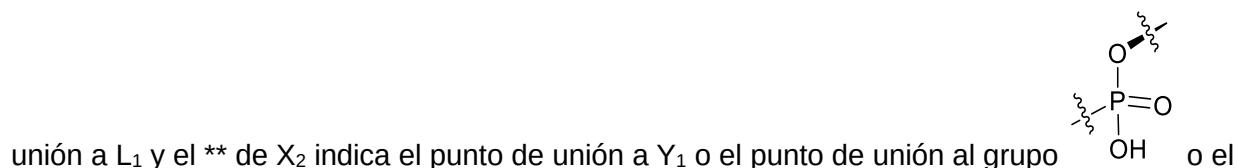
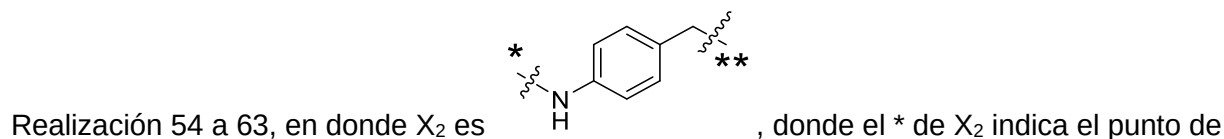
y es 1, 2, 3 o 4.

[00225] Forma de realización 63. El conjugado de cualquiera de las Formas de Realización 54 a 62, en donde X_2 es un espaciador autoinmolativo seleccionado entre





[00226] Forma de realización 64. El conjugado de cualquiera de las Formas de



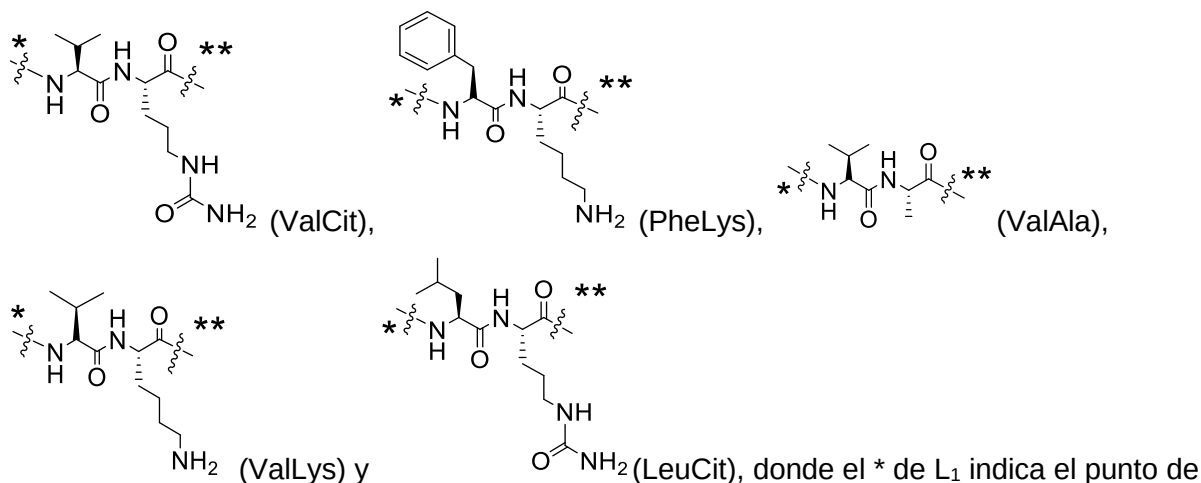
[00227] Forma de realización 65. El conjugado de cualquiera de las Formas de Realización 54 a 64, en donde L₁ es un enlazador peptídico bivalente que comprende 2 a 4 residuos de aminoácidos.

[00228] Forma de realización 66. El conjugado de cualquiera de las Formas de Realización 54 a 65, en donde L₁ es un enlazador peptídico bivalente que comprende un residuo de aminoácido seleccionado de valina, citrulina, lisina, isoleucina, fenilalanina, metionina, asparagina, prolina, alanina, leucina, triptófano y tirosina.

[00229] Forma de realización 67. El conjugado de cualquiera de las Formas de Realización 54-64, en donde L₁ es un enlazador peptídico bivalente que comprende al menos un residuo de valina (Val) o citrulina (Cit).

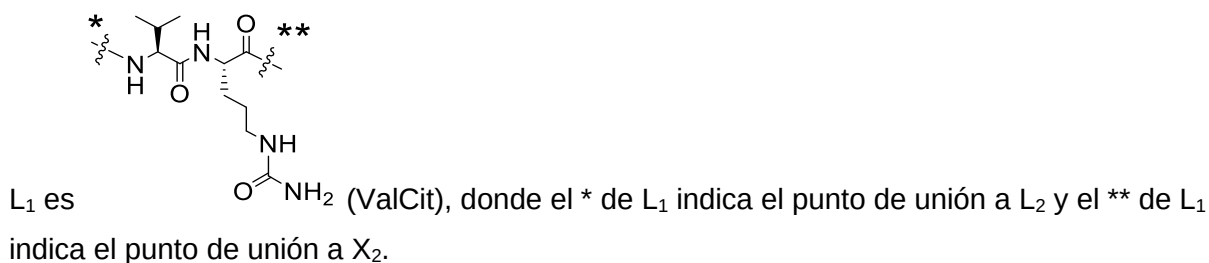
[00230] Forma de realización 68. El conjugado de cualquiera de las Formas de Realización 54 a 64, en donde L₁ es un enlazador dipeptídico bivalente seleccionado entre ValCit, PheLys, ValAla y ValLys.

[00231] Forma de realización 69. El conjugado de cualquiera de las Formas de Realización 54 a 64, en donde L₁ es un enlazador dipeptídico bivalente seleccionado entre



[00232] Forma de realización 70. El conjugado de cualquiera de las Formas de Realización 54 a 64, en donde L₁ es ValCit.

[00233] Forma de realización 71. El conjugado de cualquiera de las Formas de Realización 54 a 64, en donde



[00234] Forma de realización 72. El conjugado de cualquiera de las Formas de Realización 54 a 71, en donde L₂ es un enlazador.

[00235] Forma de realización 73. El conjugado de cualquiera de las Formas de Realización 54 a 71, en donde L₂ es un enlazador seleccionado entre:

-*C(=O)((CH₂)_mO)_p(CH₂)_m**-, -*C(=O)(CH₂)_m**-, -*C(=O)(CH₂)_nNHC(=O)(CH₂)_m**-, -
 *C(=O)(CH₂)_mNHC(=O)((CH₂)_mO)_p(CH₂)_m**-, -*((CH₂)_mO)_p(CH₂)_m**-, -*
 ((CH₂)_mO)_p(CH₂)_m**-, -(CH₂)_m-, -*((CH₂)_mNHC(=O)(CH₂)_m**-, -*
 (CH₂)_mNHC(=O)(CH₂)_mC(=O)NH(CH₂)_m**-, -*((CH₂)_mO)_p(CH₂)_mNHC(=O)(CH₂)_m**-, -*
 *((CH₂)_mO)_pCH₂)_mC(=O)NH(CH₂)_m**-, -* (CH₂)_mC(R₃)₂**-, y -*
 (CH₂)_mC(R₃)₂SS(CH₂)_mNHC(=O)(CH₂)_m**-, donde el * de L₂ indica el punto de unión a L₁ y el ** de L₂ indica el punto de unión a X₁;

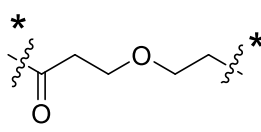
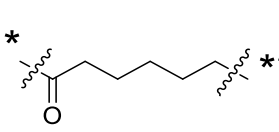
y en donde:

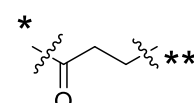
cada R_3 es independientemente seleccionado entre H y alquilo C_1-C_6 ;
 cada m es independientemente seleccionado entre 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, y
 cada p es independientemente seleccionado entre 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11,
 12, 13 y 14.

[00236] Forma de realización 74. El conjugado de cualquiera de las Formas de Realización 54 a 71, en donde L_2 es $-C(=O)((CH_2)_mO)_p(CH_2)_m^{**}-$ o $-C(=O)(CH_2)_m^{**}-$, donde el $*$ de L_2 indica el punto de unión a L_1 y el $**$ de L_2 indica el punto de unión a X_1 ,

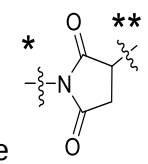
y en donde cada m es independientemente seleccionado entre 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 y p es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14.

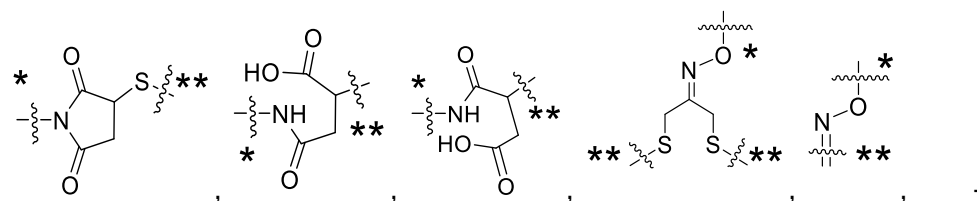
[00237] Forma de realización 75. El conjugado de cualquiera de las Formas de

Realización 54 a 71, en donde L_2 es ,  o

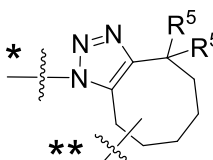
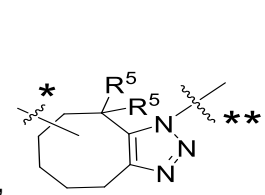
, donde el $*$ de L_2 indica el punto de unión a L_1 y el $**$ de L_2 indica el punto de unión a X_1 .

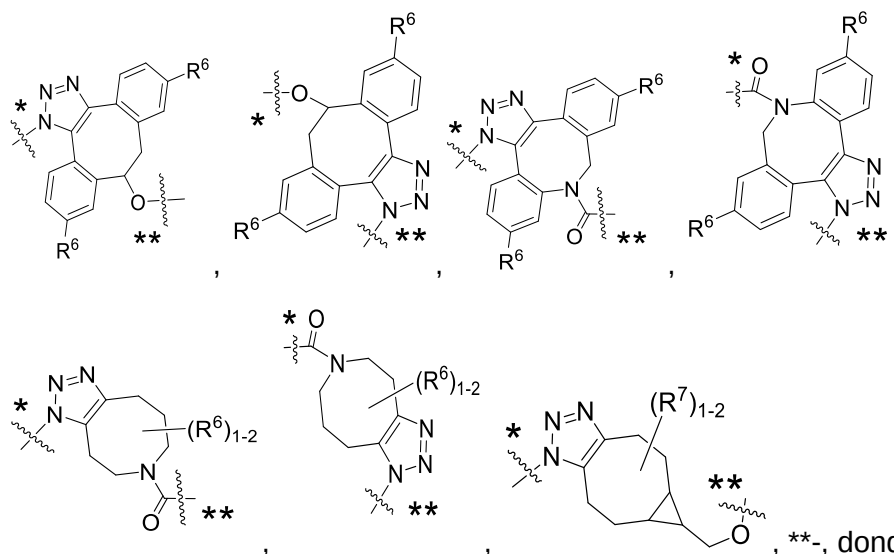
[00238] Forma de realización 76. El conjugado de cualquiera de las Formas de Realización 54 a 75,

en donde X_1 es un grupo de acoplamiento bivalente seleccionado entre ,



$-NR^4C(=O)CH_2^{**}-$, $-NHC(=O)CH_2^{**}-$, $-S(=O)_2CH_2CH_2^{**}-$, $-(CH_2)_2S(=O)_2CH_2CH_2^{**}-$,
 $-NR^4S(=O)_2CH_2CH_2^{**}-$, $-NR^4C(=O)CH_2CH_2^{**}-$, $-NH-$, $-C(=O)-$, $-NHC(=O)-^{**}-$,

$-CH_2NHCH_2CH_2^{**}-$, $-NHCH_2CH_2^{**}-$, $-S-$, , ,



, **, donde el * de X_1 indica el punto de unión a L_2 y el ** de X_1 indica el punto de unión a Ab;

y en donde:

cada R^4 es independientemente seleccionado entre H y alquilo C_1 - C_6 ;

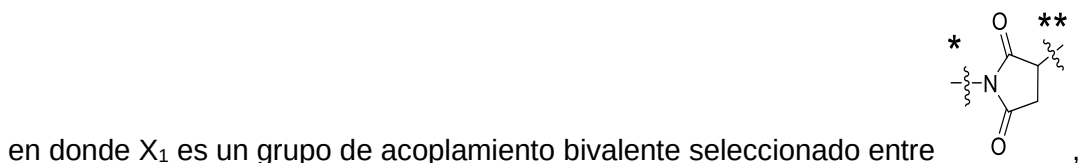
cada R^5 es independientemente seleccionado entre H, alquilo C_1 - C_6 , F, Cl, y $-OH$;

cada R^6 es independientemente seleccionado entre H, alquilo C_1 - C_6 , F, Cl, $-NH_2$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-CN$, $-NO_2$ y $-OH$,

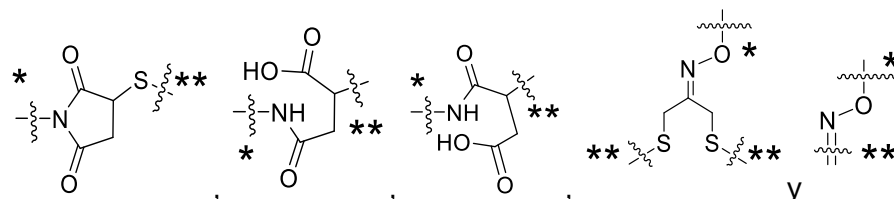
y

cada R^7 es independientemente seleccionado entre H, alquilo C_1 - C_6 , fluoro, benciloxi sustituido con $-C(=O)OH$, bencilo sustituido con $-C(=O)OH$, C_{1-4} alcoxi sustituido con $-C(=O)OH$ y alquilo C_{1-4} sustituido con $-C(=O)OH$.

[00239] Forma de realización 77. El conjugado de cualquiera de las Formas de Realización 54 a 75,



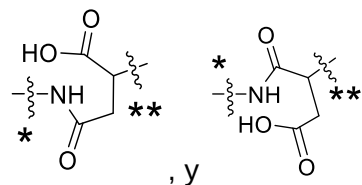
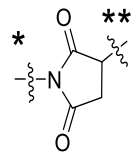
en donde X_1 es un grupo de acoplamiento bivalente seleccionado entre



y, donde el * de X_1 indica el punto de unión a L_2 y el ** de X_1 indica el punto de unión a Ab.

[00240] Forma de realización 78. El conjugado de cualquiera de las Formas de Realización 54 a 75,

en donde X_1 es un grupo de acoplamiento bivalente seleccionado entre



indica el punto de unión a Ab.

[00241] Forma de realización 79. El conjugado de la Fórmula (C-2) de la Forma de realización 54 en donde:

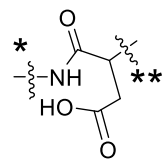
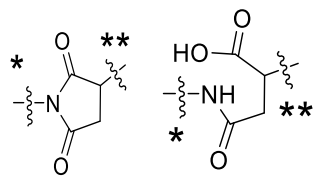
Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana;

R^0 es metilo o etilo;

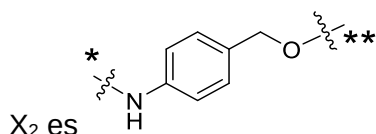
R^1 es metilo o isopropilo;

R^2 es metilo o etilo;

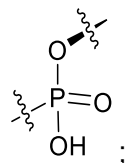
X_1 es un grupo de acoplamiento bivalente seleccionado entre

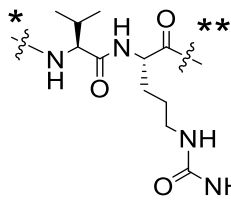


de unión a Ab

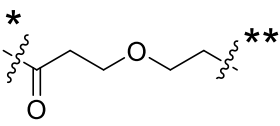
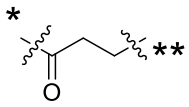


indica el punto de unión al grupo





L₁ es (ValCit), donde el * de L₁ indica el punto de unión a L₂ y el ** de L₁ indica el punto de unión a X₂;

L₂ es  o , donde el * de L₂ indica el punto de unión a L₁ y el ** de L₂ indica el punto de unión a R₈,

y

y es 1, 2, 3 o 4.

[00242] Forma de realización 80. El conjugado de la Fórmula (C-3) de la Forma de realización 58 en donde:

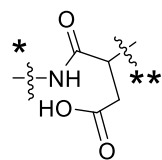
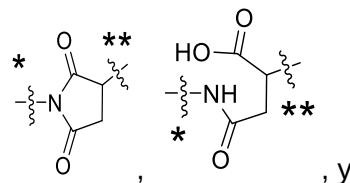
Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana;

R⁰ es metilo o etilo;

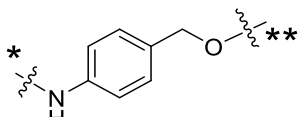
R¹ es metilo o isopropilo;

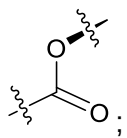
R² es metilo o etilo;

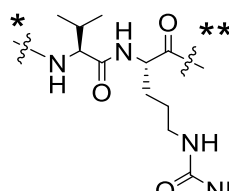
X₁ es un grupo de acoplamiento bivalente seleccionado entre



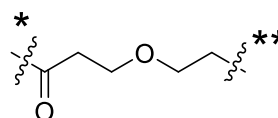
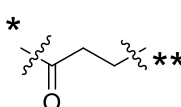
, donde el * de X₁ indica el punto de unión a L₂ y el ** de X₁ indica el punto de unión a Ab

X₂ es , donde el * de X₂ indica el punto de unión a L₁ y el ** de X₂

indica el punto de unión al grupo .



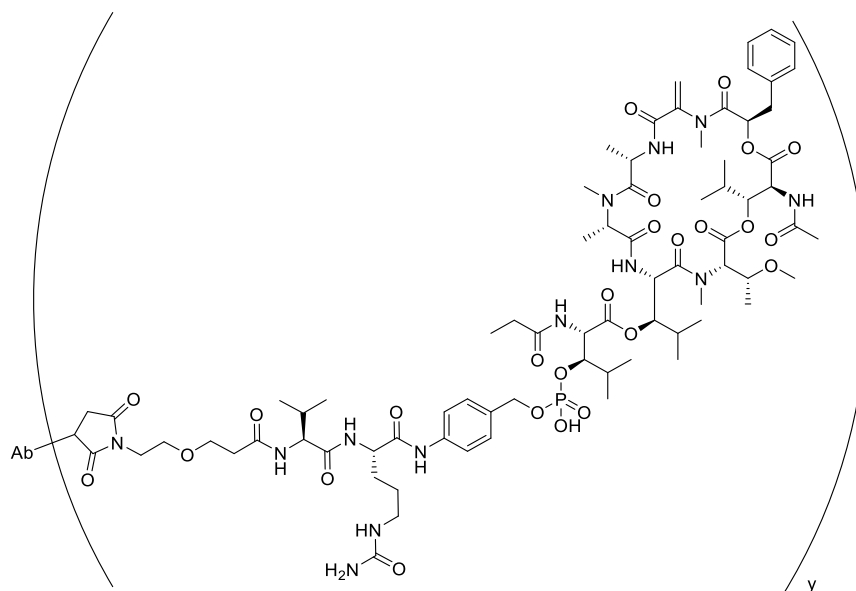
 L₁ es NC(=O)CC[C@H](C(=O)NCC[C@H](C)C(=O)N*)C(=O)O (ValCit), donde el * de L₁ indica el punto de unión a L₂ y el ** de L₁ indica el punto de unión a X₂;

L₂ es  o , donde el * de L₂ indica el punto de unión a L₁ y el ** de L₂ indica el punto de unión a R₈,

y

y es 1, 2, 3 o 4.

[00243] Forma de realización 81. El conjugado de la Fórmula (C), la Fórmula (C-1) o la Fórmula (C-2) que tiene la estructura:

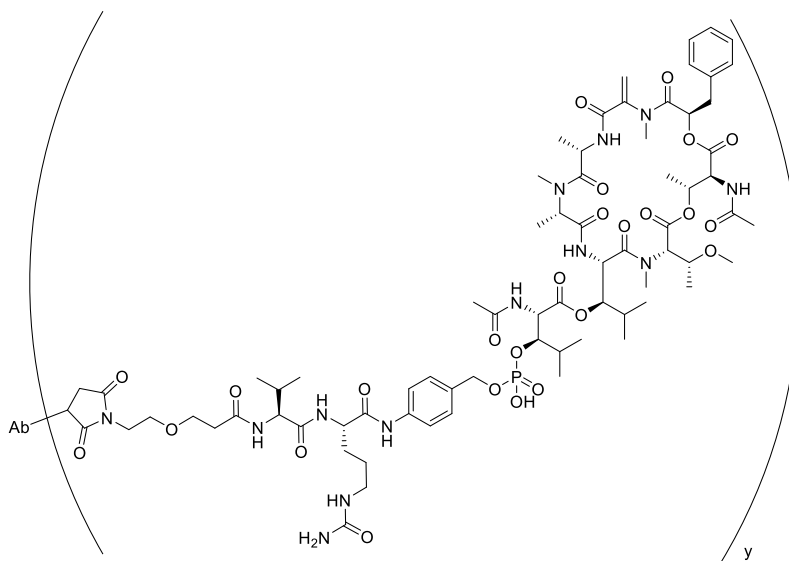


en donde:

y es 2 o 4 y

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana.

[00244] Forma de realización 82. El conjugado de la Fórmula (C), la Fórmula (C-1) o la Fórmula (C-2) que tiene la estructura:

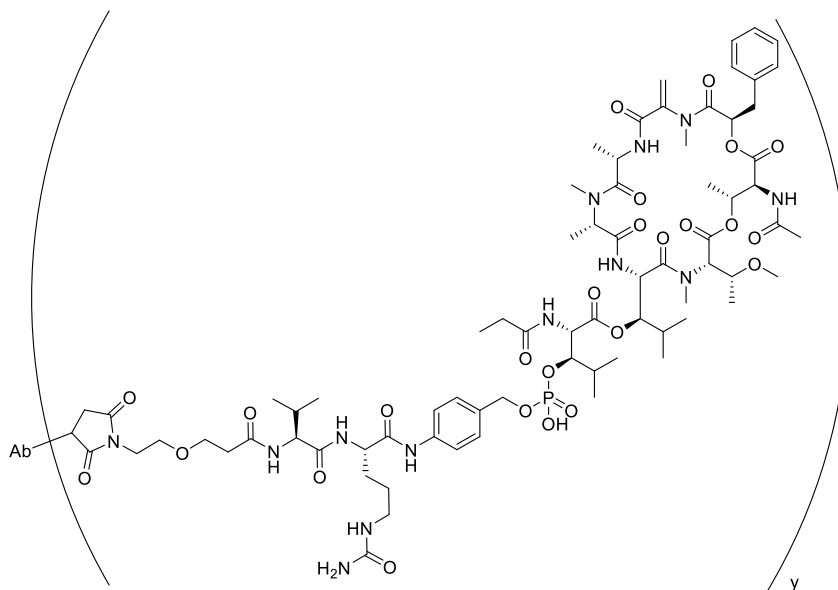


en donde:

y es 2 o 4 y

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana.

[00245] Forma de realización 83. El conjugado de la Fórmula (C), la Fórmula (C-1) o la Fórmula (C-2) que tiene la estructura:

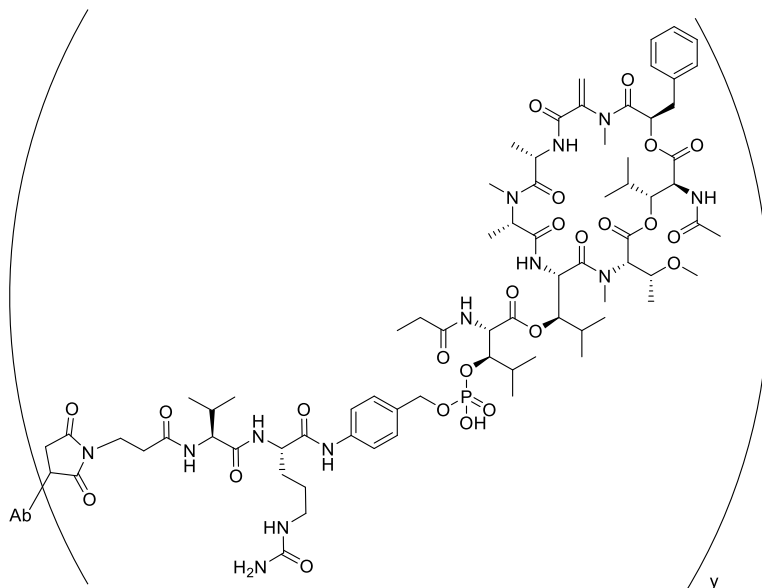


en donde:

y es 2 o 4 y

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana.

[00246] Forma de realización 84. El conjugado de la Fórmula (C), la Fórmula (C-1) o la Fórmula (C-2) que tiene la estructura:

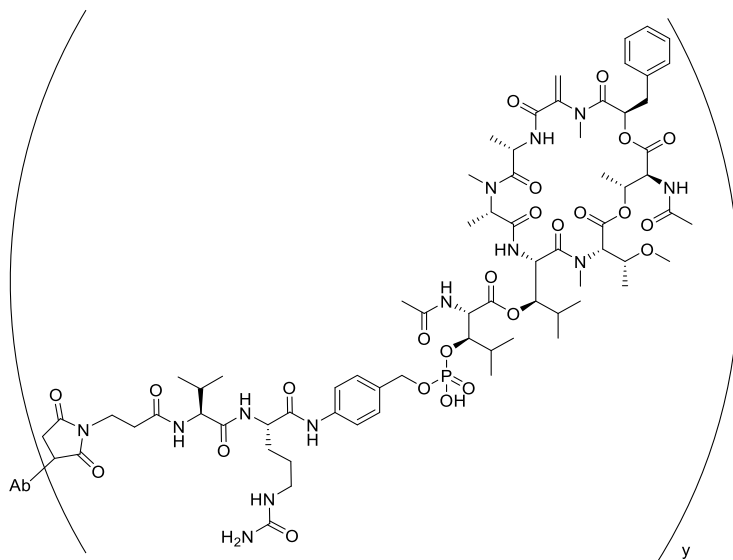


en donde:

y es 2 o 4 y

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana.

[00247] Forma de realización 85. El conjugado de la Fórmula (C), la Fórmula (C-1) o la Fórmula (C-2) que tiene la estructura:

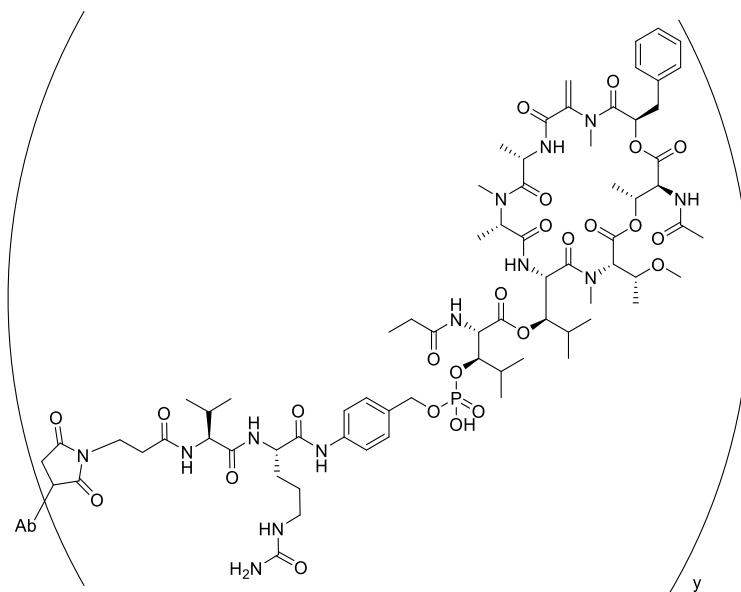


en donde:

y es 2 o 4 y

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana.

[00248] Forma de realización 86. El conjugado de la Fórmula (C), la Fórmula (C-1) o la Fórmula (C-2) que tiene la estructura:

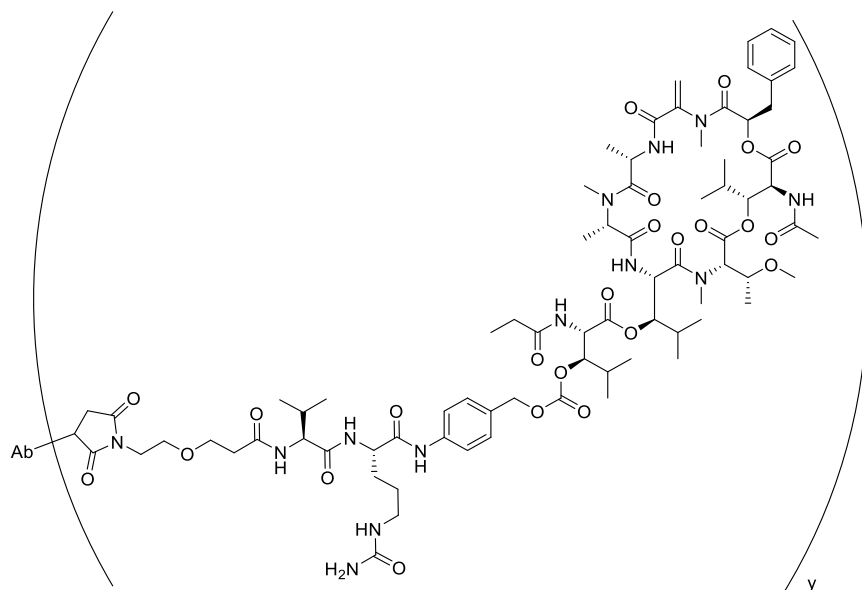


en donde:

y es 2 o 4 y

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana.

[00249] Forma de realización 87. El conjugado de la Fórmula (C), la Fórmula (C-1) o la Fórmula (C-3) que tiene la estructura:

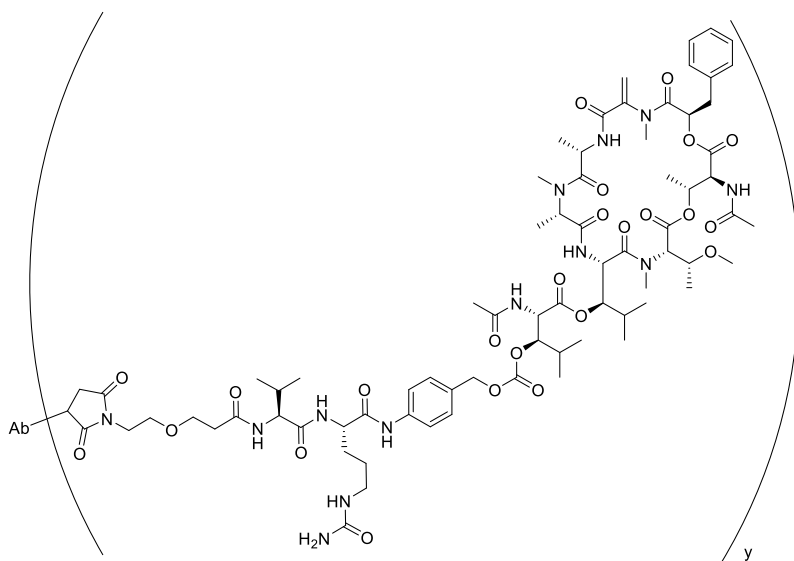


en donde:

y es 2 o 4 y

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana.

[00250] Forma de realización 88. El conjugado de la Fórmula (C), la Fórmula (C-1) o la Fórmula (C-3) que tiene la estructura:

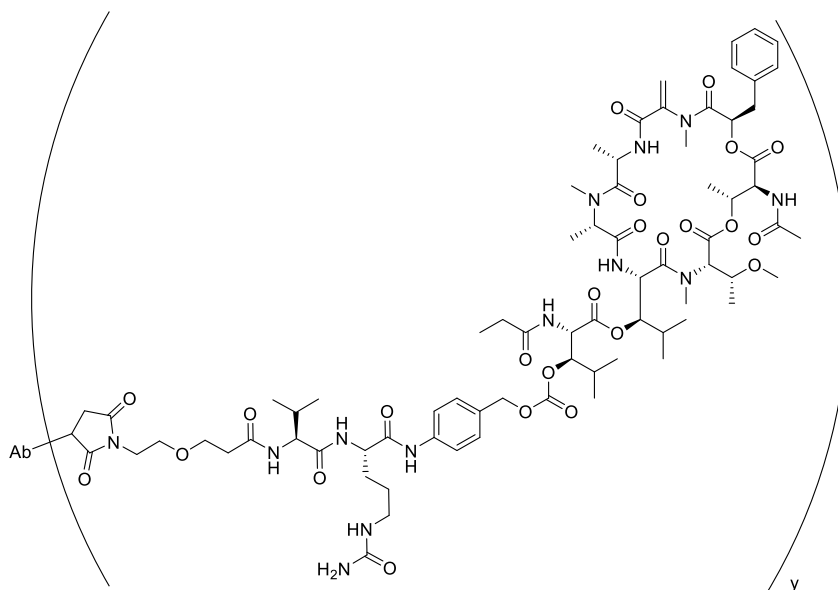


en donde:

y es 2 o 4 y

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana.

[00251] Forma de realización 89. El conjugado de la Fórmula (C), la Fórmula (C-1) o la Fórmula (C-3) que tiene la estructura:

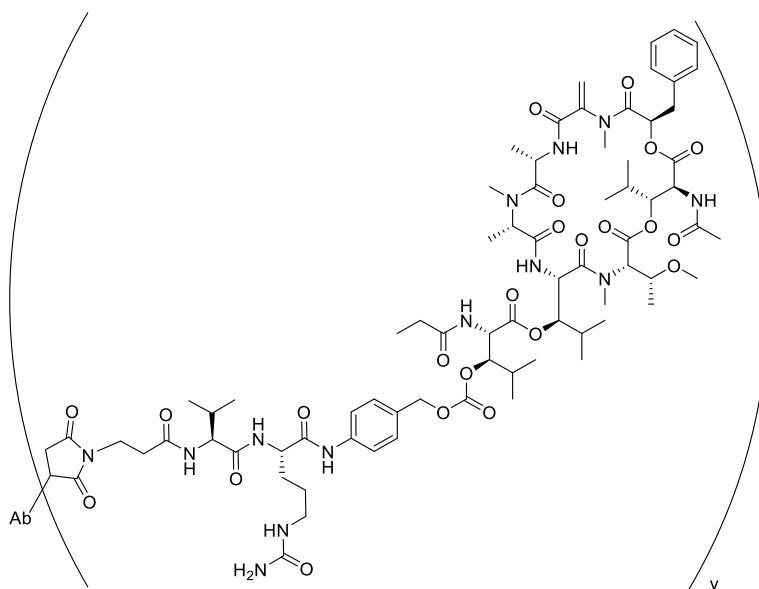


en donde:

y es 2 o 4 y

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana.

[00252] Forma de realización 90. El conjugado de la Fórmula (C), la Fórmula (C-1) o la Fórmula (C-3) que tiene la estructura:

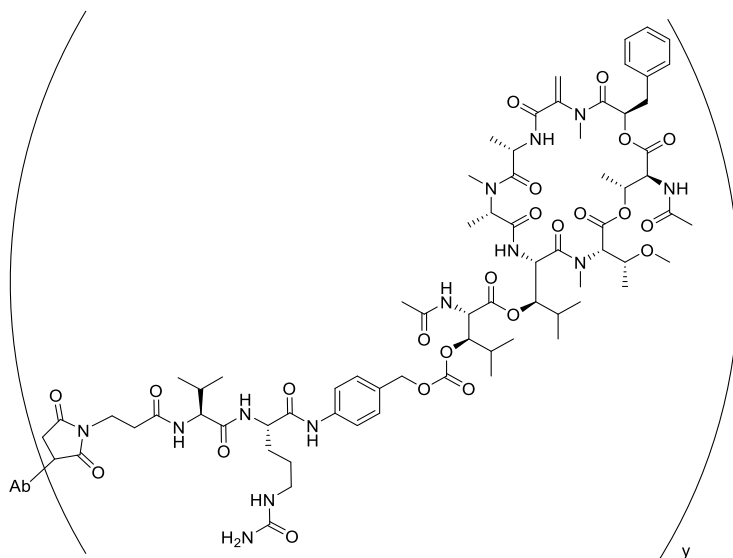


en donde:

y es 2 o 4 y

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana.

[00253] Forma de realización 91. El conjugado de la Fórmula (C), la Fórmula (C-1) o la Fórmula (C-3) que tiene la estructura:

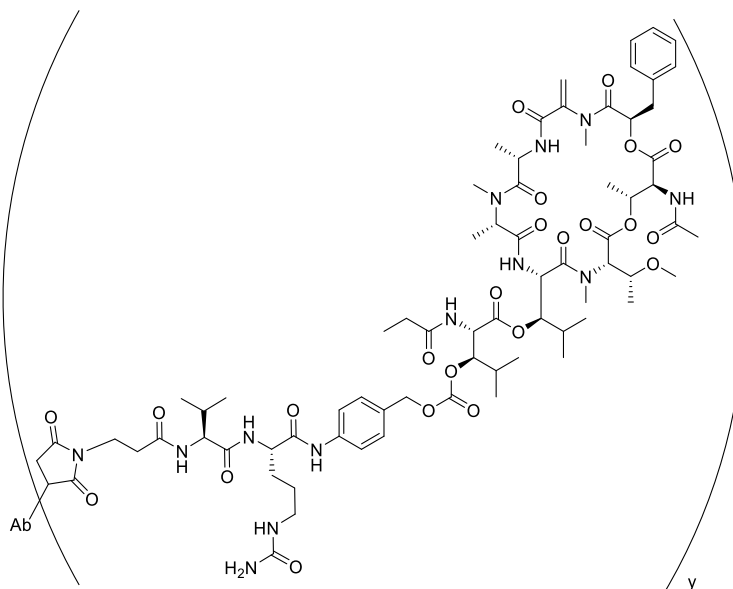


en donde:

y es 2 o 4 y

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana.

[00254] Forma de realización 92. El conjugado de la Fórmula (C), la Fórmula (C-1) o la Fórmula (C-3) que tiene la estructura:



en donde:

y es 2 o 4 y

Ab es un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que se une a la proteína PMEL17 humana.

[00255] Además, los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) o equivalentes funcionales de la presente invención pueden conjugarse a un resto de fármaco que modifica una respuesta biológica dada. Los restos de fármaco no deben interpretarse como limitados a los agentes terapéuticos químicos clásicos. Por ejemplo, el resto del fármaco puede ser una proteína, péptido o polipéptido que posee una actividad biológica deseada. Dichas proteínas pueden incluir, por ejemplo, una toxina como abrina, ricina A, exotoxina de pseudomonas, toxina del cólera o toxina de la difteria, una proteína como el factor de necrosis tumoral, interferón α , interferón β , factor de crecimiento nervioso, factor de crecimiento derivado de plaquetas, activador de plasminógeno tisular, una citocina, un agente apoptótico, un agente antiangiogénico o un modificador de la respuesta biológica como, por ejemplo, una lincocina.

[00256] En una forma de realización, los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) o equivalentes funcionales de la presente invención se conjugan con un resto de fármaco, como una citotoxina, un fármaco (por ejemplo, un inmunosupresor) o una radiotoxina. Los ejemplos de citotoxinas incluyen pero no se limitan a, taxanos (véase, *por ejemplo*, Solicitudes de Patente Internacional (PCT) Nros. WO 01/38318 y PCT/US03/02675), agentes alquilantes de ADN (*por ejemplo*, análogos de CC-1065), antraciclinas, análogos de tubulicina, análogos de duocarmicina, auristatina E, auristatina F, maitansinoides, pirrolobenzodiazepinas (PBD) y agentes citotóxicos que comprenden un resto reactivo de polietileno glicol (véase, *por ejemplo*, Sasse *et al.*, J. Antibiot. (Tokio), 53, 879-85 (2000), Suzawa *et al.*, Bioorg. Med. Chem., 8, 2175-84 (2000), Ichimura *et al.*, J. Antibiot. (Tokio), 44, 1045-53 (1991), Francisco *et al.*, Blood (2003) (publicación electrónica antes de la publicación impresa), Patentes Estadounidenses Nros. 5,475,092, 6,340,701, 6,372,738, y 6,436,931, Publicación de Solicitud de Patente Estadounidense Nro. 2001/0036923 A1, Solicitudes de Patente Estadounidense Pendientes Nros. 10/024,290 y 10/116,053, y Solicitud de Patente Internacional (PCT) Nro. WO 01/49698), taxón, citocalasina B, gramicidina D, bromuro de etidio, emetina, mitomicina, etopósido, tenoposido, vincristina, vinblastina, t. colchicina, doxorubicina, daunorubicina, dihidroxi antracina diona, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-deshidrotestosterona, glucocorticoides, procaína, tetracaína, lidocaína, propranolol y puomicina y análogos u homólogos de los mismos. Los agentes terapéuticos

además incluyen, por ejemplo, antimetabolitos (por ejemplo, metotrexato, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, 5-fluorouracil decarbazina), agentes de ablación (por ejemplo, mecloretamina, tiotepa clorambucilo, meifalán, carmustina (BSNU) y lomustina (CCNU), ciclofosfamida, busulfano, dibromomanitol, estreptozotocina, mitomicina C y cis-diclorodiamina platino (II) (DDP) cisplatino, antraciclinas (por ejemplo, daunorrubicina (anteriormente daunomicina) y doxorrubicina), antibióticos (por ejemplo, dactinomicina (anteriormente actinomicina), bleomicina, mitramicina y antramicina (AMC)) y agentes antimitóticos (por ejemplo, vincristina y vinblastina). (Véase *por ejemplo*, Seattle Genetics US20090304721).

[00257] Otros ejemplos de citotoxinas que se pueden conjugar a los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (fragmentos de unión a antígeno) o equivalentes funcionales de la invención incluyen duocarmicinas, caliqueamicinas, maitansinas y auristatinas, y sus derivados.

[00258] En la técnica se conocen diversos tipos de citotoxinas, enlazadores y métodos para conjugar agentes terapéuticos con anticuerpos, véase, *por ejemplo*, Saito *et al.*, (2003) Adv. Drug Deliv. Rev. 55:199-215; Trail *et al.*, (2003) Cancer Immunol. Immunother. 52:328-337; Payne, (2003) Cancer Cell 3:207-212; Allen, (2002) Nat. Rev. Cancer 2:750-763; Pastan and Kreitman, (2002) Curr. Opin. Investig. Drugs 3:1089-1091; Senter and Springer, (2001) Adv. Drug Deliv. Rev. 53:247-264.

[00259] Los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) o equivalentes funcionales de la presente invención también se pueden conjugar con un isótopo radiactivo para generar radiofármacos citotóxicos, denominados radioinmunoconjugados. Los ejemplos de isótopos radiactivos que se pueden conjugar con anticuerpos para su uso diagnóstico o terapéutico incluyen, pero no se limitan a, yodo-131, indio-111, itrio-90 y lutecio-177. Los métodos para preparar radioinmunoconjugados se conocen en la técnica. Los ejemplos de radioinmunoconjugados están comercialmente disponibles, e incluyen Zevalin™ (DEC Pharmaceuticals) y Bexxar™ (Corixa Pharmaceuticals), y es posible usar métodos similares para preparar radioinmunoconjugados utilizando los anticuerpos de la invención. En ciertas formas de realización, el quelante macrocíclico es ácido 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-N,N',N'',N'''-tetraacético (DOTA) que se puede unir al anticuerpo a través de una molécula enlazadora. Dichas moléculas enlazadoras se conocen comúnmente en la técnica y están descritas en Denardo *et al.*, (1998) Clin Cancer Res. 4(10):2483-90; Peterson *et al.*, (1999) Bioconjug. Chem. 10(4):553-7; y Zimmerman *et al.*, (1999) Nucl. Med. Biol. 26(8):943-50, cada uno de los cuales queda incorporado a la presente como referencia.

[00260] Los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) o equivalentes funcionales de la presente invención también pueden conjugarse a una proteína o polipéptido heterólogo (o fragmento del mismo), preferentemente a un polipéptido de por lo menos 10, por lo menos 20, por lo menos 30, por lo menos 40, por lo menos 50, por lo menos 60, por lo menos 70, por lo menos 80, por lo menos 90 o por lo menos 100 aminoácidos) para generar proteínas de fusión. En particular, la invención provee proteínas de fusión que comprenden un fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, un fragmento de unión a antígeno) descrito en la presente (*por ejemplo*, un fragmento Fab, un fragmento Fd, un fragmento Fv, un fragmento F(ab)₂, un dominio VH, una CDR de VH, un dominio VL o una CDR de VL) y una proteína, polipéptido o péptido heterólogo.

[00261] Se pueden generar proteínas de fusión adicionales a través de las técnicas de barajado de genes, barajado de motivos, barajado de exones y/o barajado de codones (denominadas colectivamente "barajado de ADN"). El barajado de ADN puede emplearse para alterar las actividades de los anticuerpos de la invención o fragmentos de los mismos (por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de los mismos con afinidades más altas y tasas de disociación más bajas). Véase, en general, Patentes Estadounidenses Nros. 5,605,793, 5,811,238, 5,830,721, 5,834,252, y 5,837,458; Patten *et al.*, (1997) Curr. Opinion Biotechnol. 8:724-33; Harayama, (1998) Trends Biotechnol. 16(2):76-82; Hansson *et al.*, (1999) J. Mol. Biol. 287:265-76; y Lorenzo and Blasco, (1998) Biotechniques 24(2):308- 313 (cada una de estas patentes y publicaciones quedan incorporadas por completo a la presente como referencia). Los anticuerpos o fragmentos de los mismos, o los anticuerpos codificados o fragmentos de los mismos, pueden alterarse siendo sometidos a mutagénesis aleatoria por PCR propensa a errores, inserción aleatoria de nucleótidos u otros métodos antes de la recombinación. Un polinucleótido que codifica un anticuerpo o fragmento del mismo que se une específicamente a un antígeno puede recombinarse con uno o más componentes, motivos, secciones, partes, dominios, fragmentos, etc. de una o más moléculas heterólogas.

[00262] Por otra parte, los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) o equivalentes funcionales de la presente invención se puede conjugar con secuencias marcadoras, como un péptido, para facilitar la purificación. En formas de realización preferidas, la secuencia de aminoácidos del marcador es un péptido de hexahistidina (SEQ ID NO: 267), tal como la etiqueta provista en un vector pQE (QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, CA, 91311), entre otros, muchos de los cuales están disponibles comercialmente. Tal como se describe en Gentz *et al.*, (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 821-824, por ejemplo, la hexahistidina (SEQ ID NO: 267) proporciona una purificación

conveniente de la proteína de fusión. Otras etiquetas peptídicas útiles para la purificación incluyen, entre otras, la etiqueta de hemaglutinina ("HA"), que corresponde a un epítipo derivado de la proteína de hemaglutinina de la gripe (Wilson et al., (1984) Cell 37: 767), y la etiqueta "FLAG" (A. Einhauer et al., J. Biochem. Biophys. Methods 49: 455–465, 2001). De acuerdo con la presente invención, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno también se pueden conjugar con péptidos que penetran en el tumor para mejorar su eficacia.

[00263] En otras formas de realización, los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) o equivalentes funcionales de la presente invención se conjugan con un agente de diagnóstico o detectable. Tales inmunokonjugados pueden ser útiles para monitorear o pronosticar el inicio, desarrollo, progresión y/o gravedad de una enfermedad o trastorno como parte de un procedimiento de prueba clínica, como determinar la eficacia de una terapia particular. Tal diagnóstico y detección se pueden lograr mediante el acoplamiento del anticuerpo a sustancias detectables que incluyen, pero no se limitan a, varias enzimas, tales como, pero sin limitación, peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, beta-galactosidasa o acetilcolinesterasa; grupos protésicos, tales como, pero sin limitación, estreptavidina/biotina y avidina/biotina; materiales fluorescentes, tales como, pero no limitados a Alexa Fluor 350, Alexa Fluor 405, Alexa Fluor 430, Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 500, Alexa Fluor 514, Alexa Fluor 532, Alexa Fluor 546, Alexa Fluor 555, Alexa Fluor 568, Alexa Fluor 594, Alexa Fluor 610, Alexa Fluor 633, Alexa Fluor 647, Alexa Fluor 660, Alexa Fluor 680, Alexa Fluor 700, Alexa Fluor 750, umbeliferona, fluoresceína, fluoresceína isotiocianato, rodamina, diclorotriazinilamina fluoresceína, cloruro de dansilo o ficoeritrina; materiales luminiscentes, tales como, pero sin limitación, luminol; materiales bioluminiscentes, tales como, pero sin limitación, luciferasa, luciferina y aequorina; materiales radiactivos, tales como, pero no limitado a, yodo (^{131}I , ^{125}I , ^{123}I , y ^{121}I), carbono (^{14}C), azufre (^{35}S), tritio (^3H), indio (^{115}In , ^{113}In , ^{112}In , y ^{111}In), tecnecio (^{99}Tc), talio (^{201}Ti), galio (^{68}Ga , ^{67}Ga), paladio (^{103}Pd), molibdeno (^{99}Mo), xenón (^{133}Xe), flúor (^{18}F), ^{153}Sm , ^{177}Lu , ^{159}Gd , ^{149}Pm , ^{140}La , ^{175}Yb , ^{166}Ho , ^{90}Y , ^{47}Sc , ^{186}Re , ^{188}Re , ^{142}Pr , ^{105}Rh , ^{97}Ru , ^{68}Ge , ^{57}Co , ^{65}Zn , ^{85}Sr , ^{32}P , ^{153}Gd , ^{169}Yb , ^{51}Cr , ^{54}Mn , ^{75}Se , ^{64}Cu , ^{113}Sn , y ^{117}Sn ; y metales que emiten positrones utilizando diversas tomografías de emisión de positrones e iones metálicos paramagnéticos no radiactivos.

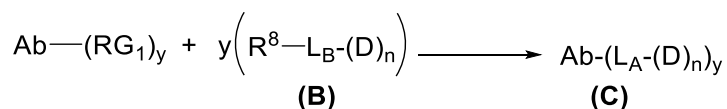
[00264] Los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) o equivalentes funcionales de la invención también se pueden unir a soportes sólidos, que son particularmente útiles para inmunoensayos o purificación del antígeno diana. Tales soportes sólidos incluyen, pero no se limitan a, vidrio, celulosa, poliácridamida, nylon, poliestireno, cloruro de polivinilo o polipropileno.

3. Conjugación y preparación de ADCs

Procesos de preparación de conjugados de anticuerpos de la Fórmula (C), la Fórmula (C-1) y la Fórmula (C-2)

[00265] Un esquema de reacción general para la formación de conjugados de la Fórmula (C) se ilustra en el Esquema 1 a continuación:

Esquema 1

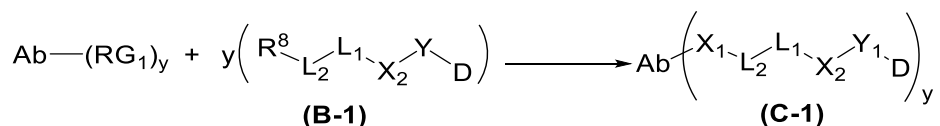


donde: RG_1 es un grupo reactivo sobre el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, Ab, a modo de ejemplo solamente un tiol, amina o cetona, que reacciona con un grupo reactivo compatible, R^8 , unido al compuesto enlazador-fármaco por medio de lo cual une covalentemente el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, Ab, a uno o más restos de enlazador-fármaco. Los ejemplos no limitativos de tales reacciones de grupos RG_1 y R^8 son una maleimida (R^8) que reacciona con un tiol (RG_1) para obtener un anillo de succinimida, o una hidroxilamina (R^8) que reacciona con una cetona (RG_1) para obtener una oxima.

En una forma de realización, D es un inhibidor de GNAQ, un inhibidor de GNA11, o un inhibidor de GNAQ y GNA11 (inhibidor de GNAQ/GNA11), L_a es un enlazador que además comprende un grupo de acoplamiento bivalente cuando RG_1 y R^8 reaccionan, n es 1, 2, 3 o 4, y y es 1, 2, 3 o 4.

[00266] Un Esquema de reacción general para la formación de conjugados de la Fórmula (C-1) se ilustra en el Esquema 2 a continuación:

Esquema 2

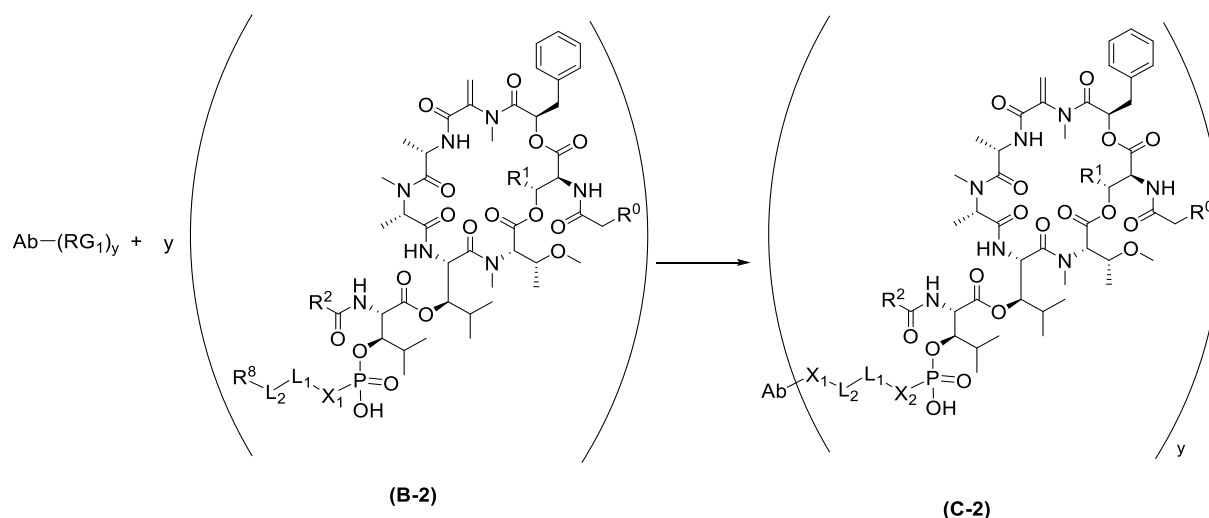


donde: RG_1 es un grupo reactivo sobre el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, Ab, a modo de ejemplo solamente un tiol, amina o cetona, que reacciona con un grupo reactivo compatible, R^8 , unido al resto enlazador-fármaco por medio de lo cual une covalentemente el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, Ab, a uno o más restos de enlazador-fármaco. Los ejemplos no limitativos de tales reacciones de grupos RG_1 y R^8 son una maleimida (R^8) que reacciona con un tiol (RG_1) para obtener un anillo de succinimida, o una hidroxilamina (R^8) que reacciona con una cetona (RG_1) para obtener una oxima.

En una forma de realización, D es un inhibidor de GNAQ, un inhibidor de GNA11, o un inhibidor de GNAQ y GNA11 (inhibidor de GNAQ/GNA11), X_1 es un grupo de acoplamiento bivalente formado cuando RG_1 y R^8 reaccionan (por ejemplo un anillo de succinimida o una oxima), Y_1 es un grupo fosfato, X_2 es un espaciador autoinmolativo, L_1 es un enlazador peptídico bivalente, L_2 es un enlace o un enlazador, y y es 1, 2, 3 o 4.

[00267] Un Esquema de reacción general para la formación de conjugados de la Fórmula (C-2) se ilustra en el Esquema 3 a continuación:

Esquema 3

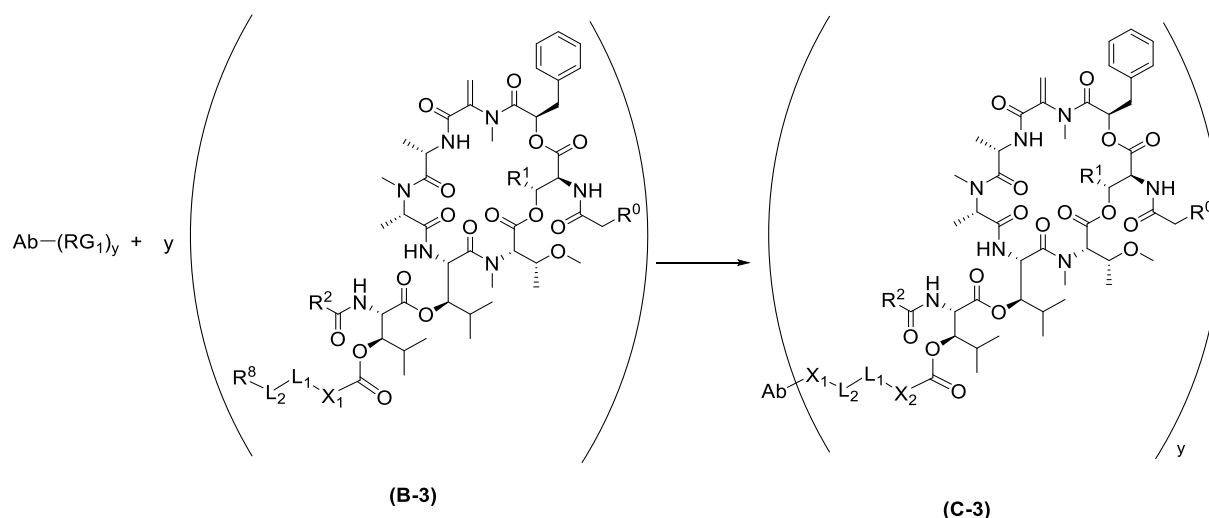


donde: RG_1 es un grupo reactivo sobre el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, Ab, a modo de ejemplo solamente un tiol, amina o cetona, que reacciona con un grupo reactivo compatible, R^8 , unido al resto enlazador-fármaco por medio de lo cual une covalentemente el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, Ab, a uno o más restos de enlazador-fármaco. Los ejemplos no limitativos de tales reacciones de grupos RG_1 y R^8 son una maleimida (R^8) que reacciona con un tiol (RG_1) para obtener un anillo de succinimida, o una hidroxilamina (R^8) que reacciona con una cetona (RG_1) para obtener una oxima.

En este caso R^0 es metilo o etilo, R^1 es metilo o isopropilo, R^2 es metilo o etilo, X_1 es un grupo de acoplamiento bivalente formado cuando RG_1 y R^8 reaccionan (por ejemplo un anillo de succinimida o una oxima), X_2 es un espaciador autoinmolativo, L_1 es un enlazador peptídico bivalente, L_2 es un enlace o un enlazador, y y es 1, 2, 3 o 4.

[00268] Un Esquema de reacción general para la formación de conjugados de la Fórmula (C-2) se ilustra en el Esquema 4 a continuación:

Esquema 4



donde: RG₁ es un grupo reactivo sobre el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, Ab, a modo de ejemplo solamente un tiol, amina o cetona, que reacciona con un grupo reactivo compatible, R⁸, unido al resto enlazador-fármaco por medio de lo cual une covalentemente el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, Ab, a uno o más restos de enlazador-fármaco. Los ejemplos no limitativos de tales reacciones de grupos RG₁ y R⁸ son una maleimida (R⁸) que reacciona con un tiol (RG₁) para obtener un anillo de succinimida, o una hidroxilamina (R⁸) que reacciona con una cetona (RG₁) para obtener una oxima.

En este caso R⁰ es metilo o etilo, R¹ es metilo o isopropilo, R² es metilo o etilo, X₁ es un grupo de acoplamiento bivalente formado cuando RG₁ y R⁸ reaccionan (por ejemplo un anillo de succinimida o una oxima), X₂ es un espaciador autoinmolativo, L₁ es un enlazador peptídico bivalente, L₂ es un enlace o un enlazador, y y es 1, 2, 3 o 4.

Proceso de conjugación con residuos de anticuerpos de cisteína obtenidos por ingeniería

[00269] Los conjugados de la invención pueden prepararse usando residuos de cisteína modificados por ingeniería genética en un anticuerpo mediante, por ejemplo, mutagénesis dirigida al sitio. Dichos conjugados dirigidos al sitio son homogéneos y tienen propiedades mejoradas. (Junutula JR, Raab H, Clark S, Bhakta S, Leipold DD, Weir S, Chen Y, Simpson M, Tsai SP, Dennis MS, Lu Y, Meng YG, Ng C, Yang J, Lee CC, Duenas E, Gorrell J, Katta V, Kim A, McDorman K, Flagella K, Venook R, Ross S, Spencer SD, Lee Wong W, Lowman HB, Vandlen R, Sliwkowski MX, Scheller RH, Polakis P, Mallet W. (2008) Nature Biotechnology 26:925-932.)

[00270] Debido a que las cisteínas modificadas por ingeniería genética en anticuerpos expresados en células de mamíferos son modificadas por aductos (disulfuros) tales como glutatión (GSH) y/o cisteína durante su biosíntesis (Chen et al. 2009), los residuos de cisteína modificados genéticamente en el producto tal como se expresaron inicialmente no son reactivos a los reactivos reactivos con tiol tales como los grupos maleimido o bromo o yodo-acetamida. Para conjugar la carga útil a una cisteína diseñada después de la expresión, los aductos de glutatión o cisteína deben eliminarse reduciendo estos aductos de disulfuro, lo que generalmente implica también reducir los disulfuros nativos en la proteína expresada. La desprotección de las cisteínas diseñadas productos de aducción se puede lograr exponiendo primero el anticuerpo a un agente reductor, por ejemplo, ditioneitol (DTT), TCEP o cisteína reducida, seguido de un procedimiento que permite la reoxidación de todos los enlaces disulfuro nativos de un anticuerpo para restaurar y/o estabilizar la estructura funcional del anticuerpo.

[00271] Se pueden emplear varios métodos para reducir y reoxidar anticuerpos con residuos de cisteína diseñados para la preparación de conjugados de anticuerpo fármaco. Los intentos de seguir los protocolos de reoxidación descritos previamente en la literatura utilizando una alta concentración de CuSO_4 dieron como resultado la precipitación de la proteína (Junutula JR, Raab H, Clark S, Bhakta S, Leipold DD, Weir S, Chen Y, Simpson M, Tsai SP, Dennis MS, Lu Y, Meng YG, Ng C, Yang J, Lee CC, Duenas E, Gorrell J, Katta V, Kim A, McDorman K, Flagella K, Venook R, Ross S, Spencer SD, Lee Wong W, Lowman HB, Vandlen R, Sliwkowski MX, Scheller RH, Polakis P, Mallet W. (2008) *Nature Biotechnology* 26:925). Hemos preparado y obtenido con éxito conjugados de anticuerpo fármaco con varios métodos diferentes para la reducción y la reoxidación de anticuerpos.

[00272] El siguiente es un método para reducir y reoxidar anticuerpos con residuos de cisteína diseñados para la preparación de conjugados de anticuerpo fármaco: se agrega DTT recién preparado a anticuerpos mutantes Cys purificados a una concentración final de 10 mM. Después de la incubación con DTT a temperatura ambiente durante 1 hora, la mezcla se dializa a 4 °C contra PBS durante tres días con intercambio diario de tampón para eliminar el DTT y volver a oxidar los enlaces disulfuro nativos del anticuerpo. Un método alternativo es eliminar los reactivos reductores a través de una columna de desalación como Sephadex G-25, equilibrada con PBS. Una vez que la proteína está completamente reducida, se agrega opcionalmente ascorbato oxidado 1 mM (ácido dehidro-ascórbico) a las muestras desalinizadas y se llevan a cabo incubaciones de reoxidación durante 20-24 horas.

[00273] En otro ejemplo de método, la desprotección de los residuos Cys obtenidos por ingeniería se logra mediante la adición de cisteína completamente reducida a una concentración de 20 mM a los anticuerpos unidos a la proteína A-resina Sefarosa. La reducción de los aductos de Cys se logra por incubación durante aproximadamente 30-60 minutos a temperatura ambiente, luego el reductor se elimina rápidamente lavando la resina con 50 volúmenes de PBS. La reoxidación de los anticuerpos reducidos se logra incubando la suspensión lavada a temperatura ambiente con o sin adición de CuCl_2 50-2000 nM como acelerador. Con la excepción del uso de sulfato de cobre, los ejemplos de la presente utilizan cada uno de los protocolos descritos con resultados similares. La reoxidación restaura los disulfuros dentro de la cadena, mientras que la diálisis, desalinización o cromatografía de la proteína A elimina el agente reductor, así como las cisteínas y glutationes inicialmente conectados a la o las cisteínas diseñadas del anticuerpo. La cromatografía de fase inversa HPLC se usa típicamente para monitorear el proceso de reoxidación: los anticuerpos se cargan en una columna PLRP-S (4000 Å, 50 mm x 2,1 mm, Agilent) calentada a 80 °C y eluida usando un gradiente lineal de 30-45% de CH_3CN en agua que contiene 0,1% de TFA a 1,5 mL/min. y detección de picos a 215, 254 y 280 nm.

[00274] Después de la reoxidación, el anticuerpo se conjuga con un compuesto enlazador-fármaco de, a modo de ejemplo, los compuestos de la Fórmula (B), la Fórmula (B-1), la Fórmula (B-2) o la Fórmula (B-3) (véanse los esquemas 1-4). A modo de ejemplo, un compuesto de la Fórmula (B), la Fórmula (B-1), la Fórmula (B-2) o la Fórmula (B-3) se agrega al anticuerpo mutante Cys reoxidado a 5-10 equivalentes molares con respecto al anticuerpo en el tampón PBS (pH 7,2). Las incubaciones se llevan a cabo durante 1-2 horas. El proceso de conjugación se monitorea mediante HPLC de fase inversa, que puede separar los anticuerpos conjugados de los no conjugados. Las mezclas de reacción de conjugación se analizan en una columna PLRP-S (4000 Å, 50 mm x 2,1 mm, Agilent) calentada a 80 °C y la elución de la columna se lleva a cabo mediante un gradiente lineal de acetonitrilo al 30-60% en agua que contiene 0,1% de TFA a una velocidad de flujo de 1,5 mL/min. La elución de las proteínas de la columna se controla a 280 nm, 254 nm y 215 nm.

[00275] Alternativamente, para los anticuerpos unidos a una resina de proteína A, una vez que el anticuerpo se vuelve a oxidar, la resina se lava con 10 volúmenes de columna de PBS y la resina luego se resuspende en igual volumen de PBS y se agrega un exceso de 8x de un compuesto de la Fórmula (B), la fórmula (B-1), la fórmula (B-2) o la fórmula (B-3) (en DMSO) y se incuba a temperatura ambiente durante 2 horas. La resina se lava luego con 50 volúmenes de columna de PBS y el conjugado resultante de anticuerpo fármaco se eluye de la

resina de proteína A, se neutraliza con 1/10 volumen 1 M Tris pH 9,0 y el tampón se intercambia en tampón apropiado para realizar una cromatografía preparativa de exclusión por tamaño (de ser necesario).

[00276] Los inmunoconjugados también se caracterizan en términos de carga promedio de un resto de fármaco a un resto de unión a anticuerpo, generalmente denominada relación fármaco-anticuerpo (DAR). El valor DAR se extrapola, por ejemplo, a partir de datos de LC-MS para muestras reducidas y desglicosiladas. LC/MS permite la cuantificación del número promedio de moléculas de carga útil (resto de fármaco) unidas a un anticuerpo en un ADC. La HPLC separa un anticuerpo en las cadenas ligeras y pesadas, y también separa la cadena pesada (HC) y la cadena ligera (LC) de acuerdo con el número de grupos Enlazador-Carga Útil por cadena. Los datos espectrales de masas permiten la identificación de las especies componentes en la mezcla, por ejemplo, LC, LC+1, LC+2, HC, HC+1, HC+2, etc. A partir de la carga promedio de las cadenas LC y HC, se puede calcular el promedio de DAR para un ADC. La DAR para una muestra de inmunoconjugado dada representa el número promedio de moléculas de fármaco (carga útil) unidas a un anticuerpo tetramérico que contiene dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas.

[00277] En todo el texto de la presente solicitud, si hubiera una discrepancia entre el texto de la memoria y el listado de secuencias, prevalecerá el texto de la memoria.

Tabla 2. Ejemplos de Anticuerpos Anti-PMEL17 de la Presente Invención

G1 E152C_S375C_wt LC		
SEQ ID NO: 1	HCDR1 (Combinada)	GGTFSDYAIT
SEQ ID NO: 2	HCDR2 (Combinada)	GIIPFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (Combinada)	EGLLTDISYSRYWFAY
SEQ ID NO: 4	HCDR1 (Kabat)	DYAIT
SEQ ID NO: 2	HCDR2 (Kabat)	GIIPFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (Kabat)	EGLLTDISYSRYWFAY
SEQ ID NO: 5	HCDR1 (Chothia)	GGTFSDY
SEQ ID NO: 6	HCDR2 (Chothia)	IPIFGT
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (Chothia)	EGLLTDISYSRYWFAY

SEQ ID NO: 7	HCDR1 (IMGT)	GGTFSDYA
SEQ ID NO: 8	HCDR2 (IMGT)	IIPIFGTA
SEQ ID NO: 9	HCDR3 (IMGT)	AREGGLLTDISYSRYWFAY
SEQ ID NO: 10	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSD YAITWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA REGGLLTDISYSRYWFAYWGQGLVTVSS
SEQ ID NO: 11	ADN VH	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAA GTGAAAAAACCAGGCAGCAGCGTGAAAGTTA GCTGCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTTCTGA CTACGCTATCACTTGGGTGCGCCAGGCCCC GGGCCAGGGCCTCGAGTGGATGGGCGGTAT CATCCCGATCTTCGGCACTGCGAACTACGCC CAGAAATTTAGGGCCGGGTGACCATTACCG CCGATGAAAGCACCAGCACCGCCTATATGGA ACTGAGCAGCCTGCGCAGCGAAGATACGGC CGTGTATTATTGCGCGCGTGAAGGTGGTCTG CTGACTGACATCTCTTACTCTCGTTACTGGTT CGCTTACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGAC TGTTAGCTCA
SEQ ID NO: 12	Cadena Pesada	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSD YAITWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA REGGLLTDISYSRYWFAYWGQGLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPC PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV PKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
SEQ ID NO: 13	ADN Cadena Pesada	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAA GTGAAAAAACCAGGCAGCAGCGTGAAAGTTA GCTGCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTTCTGA CTACGCTATCACTTGGGTGCGCCAGGCCCC GGGCCAGGGCCTCGAGTGGATGGGCGGTAT CATCCCGATCTTCGGCACTGCGAACTACGCC CAGAAATTTAGGGCCGGGTGACCATTACCG CCGATGAAAGCACCAGCACCGCCTATATGGA ACTGAGCAGCCTGCGCAGCGAAGATACGGC CGTGTATTATTGCGCGCGTGAAGGTGGTCTG CTGACTGACATCTCTTACTCTCGTTACTGGTT CGCTTACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGAC TGTTAGCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCAAGT

		GTGTTTCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTA CTTCCGGCGGAACTGCTGCCCTGGGTTGCC TGGTGAAGGACTACTTCCCCTGTCCCGTGAC AGTGTCTGGAACCTCTGGGGCTCTGACTTCC GGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAG AGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTG GTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACC CAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGC CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGG AGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCT GCCCCCCTGCCAGCTCCAGAACTGCTGG GAGGGCCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCCCCAA GCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGAC CCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCCACAGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAA CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAA CGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTA CAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCT GACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGG CAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAG GCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCA GCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCC CAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCGGGAG GAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCT GTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTGTGATAT CGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCC CGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCAGTG CTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACA GCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGC AGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGA TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCA GAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 14	LCDR1 (Combinada)	SGDALRDKFVY
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (Combinada)	DDNNRPS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (Combinada)	QSWDHSYSLVV
SEQ ID NO: 14	LCDR1 (Kabat)	SGDALRDKFVY
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (Kabat)	DDNNRPS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (Kabat)	QSWDHSYSLVV
SEQ ID NO: 17	LCDR1 (Chothia)	DALRDKF
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (Chothia)	DDN
SEQ ID NO: 19	LCDR3 (Chothia)	WDHSYSLV
SEQ ID NO: 20	LCDR1 (IMGT)	ALRDKF

SEQ ID NO: 18	LCDR2 (IMGT)	DDN
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (IMGT)	QSWDHSYSLVV
SEQ ID NO: 21	VL	DIELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDALRDKFVY WYQQKPGQAPVLVIYDDNNRPSGIPERFSGSN SGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSWDHSYSLV VFGGGTKLTVL
SEQ ID NO: 22	ADN VL	GATATCGAACTGACCCAGCCGCCGAGCGTG AGCGTGAGCCCGGGCCAGACCGCGAGCATT ACCTGTAGCGGCGATGCTCTGCGTGACAAAT TCGTTTACTGGTACCAGCAGAAACCGGGCCA GGCGCCGGTGCTGGTGATCTACGACGACAA CAACCGTCCGAGCGGCATCCCGGAACGTTTT AGCGGATCCAACAGCGGCAACACCGCGACC CTGACCATTAGCGGCACCCAGGCGGAAGAC GAAGCGGATTATTACTGCCAGTCTTGGGACC ATTCTTACTCTCTGGTTGTGTTTGGCGGCGG CACGAAGTTAACTGTCCTG
SEQ ID NO: 23	Cadena Ligera	DIELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDALRDKFVY WYQQKPGQAPVLVIYDDNNRPSGIPERFSGSN SGNTATLTISGTQAEDEADYYCQSWDHSYSLV VFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQA NKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV ETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 24	ADN Cadena Ligera	GATATCGAACTGACCCAGCCGCCGAGCGTG AGCGTGAGCCCGGGCCAGACCGCGAGCATT ACCTGTAGCGGCGATGCTCTGCGTGACAAAT TCGTTTACTGGTACCAGCAGAAACCGGGCCA GGCGCCGGTGCTGGTGATCTACGACGACAA CAACCGTCCGAGCGGCATCCCGGAACGTTTT AGCGGATCCAACAGCGGCAACACCGCGACC CTGACCATTAGCGGCACCCAGGCGGAAGAC GAAGCGGATTATTACTGCCAGTCTTGGGACC ATTCTTACTCTCTGGTTGTGTTTGGCGGCGG CACGAAGTTAACTGTCCTGGGACAACCTAAG GCCGCTCCCTCCGTGACCCTGTTCCCCCCC AGCTCCGAGGAACTGCAGGCCAACAAGGCC ACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACC CTGGCGCCGTGACCGTGCCCTGGAAGGCCG ACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGAGAGA CAACCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAA GTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGAC CCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGAAGCTA CAGCTGCCAGGTCACCCACGAGGGCAGCAC CGTGGAGAAAACCGTGGCCCCCACCAGAGTG CAGC
G1 E152C_S375C_3J LC		
SEQ ID NO: 1	HCDR1 (Combinada)	GGTFSDYAIT

SEQ ID NO: 2	HCDR2 (Combinada)	GIPIFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (Combinada)	EGLLTDISYSRYWFAY
SEQ ID NO: 4	HCDR1 (Kabat)	DYAIT
SEQ ID NO: 2	HCDR2 (Kabat)	GIPIFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (Kabat)	EGLLTDISYSRYWFAY
SEQ ID NO: 5	HCDR1 (Chothia)	GGTFSDY
SEQ ID NO: 6	HCDR2 (Chothia)	IPIFGT
SEQ ID NO: 3	HCDR3(Chot hia)	EGLLTDISYSRYWFAY
SEQ ID NO: 7	HCDR1 (IMGT)	GGTFSDYA
SEQ ID NO: 8	HCDR2 (IMGT)	IPIFGTA
SEQ ID NO: 9	HCDR3 (IMGT)	AREGLLTDISYSRYWFAY
SEQ ID NO: 10	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSD YAITWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA REGLLTDISYSRYWFAYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 11	ADN VH	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAA GTGAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTA GCTGCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTTCTGA CTACGCTATCACTTGGGTGCGCCAGGCCCC GGGCCAGGGCCTCGAGTGGATGGGCGGTAT CATCCCGATCTTCGGCACTGCGAACTACGCC CAGAAATTTAGGGCCGGGTGACCATTACCG CCGATGAAAGCACCAGCACCGCCTATATGGA ACTGAGCAGCCTGCGCAGCGAAGATACGGC CGTGTATTATTGCGCGCGTGAAGGTGGTCTG CTGACTGACATCTCTTACTCTCGTTACTGGTT CGCTTACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGAC TGTTAGCTCA
SEQ ID NO: 12	Cadena Pesada	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSD YAITWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA REGLLTDISYSRYWFAYWGQGLTVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPC PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV KSCDKHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT

		VDKSRWQQGNVFSVMSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
SEQ ID NO: 13	ADN Cadena Pesada	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAA GTGAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTA GCTGCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTTCTGA CTACGCTATCACTTGGGTGCGCCAGGCCCC GGGCCAGGGCCTCGAGTGGATGGGCGGTAT CATCCCGATCTTCGGCACTGCGAACTACGCC CAGAAATTTAGGGCCGGGTGACCATTACCG CCGATGAAAGCACCCAGCACCGCCTATATGGA ACTGAGCAGCCTGCGCAGCGAAGATACGGC CGTGTATTATTGCGCGCGTGAAGGTGGTCTG CTGACTGACATCTCTTACTCTCGTTACTGGTT CGTTACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGAC TGTTAGCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCAAGT GTGTTTCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTA CTTCCGGCGGAACTGCTGCCCTGGGTTGCC TGGTGAAGGACTACTTCCCCTGTCCCGTGAC AGTGTCTGGAACCTCTGGGGCTCTGACTTCC GGCGTGACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAG AGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTG GTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCC AGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCC CAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGA GCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG CCCCCCTGCCAGCTCCAGAACTGCTGGG AGGGCCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCACAAG CCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACC CCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTG TCCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACT GGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACG CCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACA ACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGA CCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCA AAGAATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGC CCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAGC AAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAG GTGTACACCCTGCCCCCAGCCGGGAGGAG ATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTC TGGTGAAGGGCTTCTACCCCTGTGATATCGC CGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGA GAACAACCTACAAGACCACCCCCCAGTGCTG GACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCA AGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGC AGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGC ACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 14	LCDR1 (Combinada)	SGDALRDKFVY
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (Combinada)	DDNNRPS

SEQ ID NO: 16	LCDR3 (Combinada)	QSWDHSYSLVV
SEQ ID NO: 14	LCDR1 (Kabat)	SGDALRDKFVY
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (Kabat)	DDNNRPS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (Kabat)	QSWDHSYSLVV
SEQ ID NO: 17	LCDR1 (Chothia)	DALRDKF
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (Chothia)	DDN
SEQ ID NO: 19	LCDR3 (Chothia)	WDHSYSLV
SEQ ID NO: 20	LCDR1 (IMGT)	ALRDKF
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (IMGT)	DDN
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (IMGT)	QSWDHSYSLVV
SEQ ID NO: 25	VL	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDALRDKFVY WYQQKPGQAPVLVIYDDNNRPSGIPERFSGSN SGNTATLTISRAGDEADYYCQSWDHSYSLV VFGGGTKLTVL
SEQ ID NO: 26	ADN VL	AGCTACGAGCTGACCCAGCCGCTGTCGGTG TCAGTCGCCCTGGGACAACTGCCAGGATCA CTTGTTCCGGGGACGCATTGCGGGACAAGTT CGTGTAAGTGGTACCAGCAGAAGCCGGGTCA AGCCCCAGTGCTCGTGATCTACGACGACAAC AACCGGCCTTCCGGTATCCCCGAACGCTTCT CCGGATCCAATAGCGGAAACACCGCCACCCT GACCATTTCGAGAGCTCAGGCCGGGGATGA AGCGGACTACTACTGCCAGTCATGGGATCAC TCGTACTCCCTCGTCGTGTTTGGAGGCGGCA CGAAGCTTACTGTGCTG
SEQ ID NO: 27	Cadena Ligera	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDALRDKFVY WYQQKPGQAPVLVIYDDNNRPSGIPERFSGSN SGNTATLTISRAGDEADYYCQSWDHSYSLV VFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQA NKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV ETTTPSKQSNKKAASSYLSLTPEQWKSRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 28	ADN Cadena Ligera	AGCTACGAGCTGACCCAGCCGCTGTCGGTG TCAGTCGCCCTGGGACAACTGCCAGGATCA CTTGTTCCGGGGACGCATTGCGGGACAAGTT CGTGTAAGTGGTACCAGCAGAAGCCGGGTCA AGCCCCAGTGCTCGTGATCTACGACGACAAC AACCGGCCTTCCGGTATCCCCGAACGCTTCT CCGGATCCAATAGCGGAAACACCGCCACCCT GACCATTTCGAGAGCTCAGGCCGGGGATGA AGCGGACTACTACTGCCAGTCATGGGATCAC TCGTACTCCCTCGTCGTGTTTGGAGGCGGCA

		CGAAGCTTACTGTGCTGGGCCAGCCTAAGG CCGCTCCCTCCGTGACCCTGTTCCCCCCCAG CTCCGAGGAAGTGCAGGCCAACAAGGCCAC CCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCT GGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGAC AGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGAGACA ACCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGT ACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCC CCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGAAGCTACA GCTGCCAGGTCACCCACGAGGGCAGCACCG TGGAGAAAACCGTGGCCCCCACCAGGTGCA GC
G1 E152C_S375C_3R LC		
SEQ ID NO: 1	HCDR1 (Combinada)	GGTFSDYAIT
SEQ ID NO: 2	HCDR2 (Combinada)	GIPIFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (Combinada)	EGLLTDISYSRYWFAY
SEQ ID NO: 4	HCDR1 (Kabat)	DYAIT
SEQ ID NO: 2	HCDR2 (Kabat)	GIPIFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO: 3	HCDR3 (Kabat)	EGLLTDISYSRYWFAY
SEQ ID NO: 5	HCDR1 (Chothia)	GGTFSDY
SEQ ID NO: 6	HCDR2 (Chothia)	IPIFGT
SEQ ID NO: 3	HCDR3(Chot hia)	EGLLTDISYSRYWFAY
SEQ ID NO: 7	HCDR1 (IMGT)	GGTFSDYA
SEQ ID NO: 8	HCDR2 (IMGT)	IPIFGTA
SEQ ID NO: 9	HCDR3 (IMGT)	AREGLLTDISYSRYWFAY
SEQ ID NO: 10	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSD YAITWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDNAVYYCA REGLLTDISYSRYWFAYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 11	ADN VH	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAA GTGAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTA GCTGCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTTCTGA CTACGCTATCACTTGGGTGCGCCAGGCCCC GGGCCAGGGCCTCGAGTGGATGGGCGGTAT CATCCCGATCTTCGGCACTGCGAACTACGCC CAGAAATTTACAGGGCCGGGTGACCATTACCG CCGATGAAAGCACCAGCACCGCCTATATGGA ACTGAGCAGCCTGCGCAGCGAAGATACGGC CGTGTATTATTGCGCGCGTGAAGGTGGTCTG CTGACTGACATCTCTTACTCTCGTTACTGGTT

		CGCTTACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGAC TGTTAGCTCA
SEQ ID NO: 12	Cadena Pesada	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSD YAITWVRQAPGQGLEWMGGIIPFGTANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCA REGGLLTDISYSRYWFAYWGQGLTVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPC PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
SEQ ID NO: 13	ADN Cadena Pesada	CAGGTGCAATTGGTGCAAGCGGTGCCGAA GTGAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTA GCTGCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTTCTGA CTACGCTATCACTTGGGTGCGCCAGGCCCC GGGCCAGGGCCTCGAGTGGATGGGCGGTAT CATCCCGATCTTCGGCACTGCGAACTACGCC CAGAAATTCAGGGCCGGGTGACCATTACCG CCGATGAAAGCACCAGCACCGCCTATATGGA ACTGAGCAGCCTGCGCAGCGAAGATACGGC CGTGTATTATTGCGCGCGTGAAGGTGGTCTG CTGACTGACATCTCTTACTCTCGTTACTGGTT CGCTTACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGAC TGTTAGCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCAAGT GTGTTTCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTA CTTCCGGCGGAAGTCTGCTGCCCTGGGTTGCC TGGTGAAGGACTACTTCCCCTGTCCCGTGAC AGTGTCTGGAAGTCTGGGGCTCTGACTTCC GGCGTGACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAG AGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTG GTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCC AGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCC CAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGA GCCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTG CCCCCCTGCCAGCTCCAGAAGTCTGCTGGG AGGGCCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCCCCAAG CCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACC CCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTG TCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACT GGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACG CCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACA ACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGA CCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCA AAGAATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGC CCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAGC

		AAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAG GTGTACACCCTGCCCCCAGCCGGGAGGAG ATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTC TGGTGAAGGGCTTCTACCCCTGTGATATCGC CGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGA GAACAACCTACAAGACCACCCCCCAGTGCTG GACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCA AGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGC AGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGC ACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 14	LCDR1 (Combinada)	SGDALRDKFVY
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (Combinada)	DDNNRPS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (Combinada)	QSWDHSYSLVV
SEQ ID NO: 14	LCDR1 (Kabat)	SGDALRDKFVY
SEQ ID NO: 15	LCDR2 (Kabat)	DDNNRPS
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (Kabat)	QSWDHSYSLVV
SEQ ID NO: 17	LCDR1 (Chothia)	DALRDKF
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (Chothia)	DDN
SEQ ID NO: 19	LCDR3 (Chothia)	WDHSYSLV
SEQ ID NO: 20	LCDR1 (IMGT)	ALRDKF
SEQ ID NO: 18	LCDR2 (IMGT)	DDN
SEQ ID NO: 16	LCDR3 (IMGT)	QSWDHSYSLVV
SEQ ID NO: 29	VL	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDALRDKFVY WYQQKPGQSPVLVIYDDNNRPSGIPERFSGSN SGNTATLTISGTQAMDEADYYCQSWDHSYSLV VFGGGTKLTVL
SEQ ID NO: 30	ADN VL	TCGTACGAGCTCACTCAACCGCCTTCTGTGT CCGTGTCACCCGGGCAGACTGCCTCCATTAC CTGTTTCGGGAGATGCCCTGCGCGACAAGTTT GTGTACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGACAG TCGCCAGTGCTCGTCATCTATGACGACAACA ACAGACCTTCCGGTATCCCGGAACGGTTTCAG CGGAAGCAATTCCGGCAACACCGCTACCCTG ACCATTAGCGGCACTCAGGCCATGGACGAA GCGGATTACTACTGCCAATCCTGGGACCACT CATACTCCCTTGTGGTGTTCGGTGGCGGAAC GAAGCTGACCGTCCTG
SEQ ID NO: 31	Cadena Ligera	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDALRDKFVY WYQQKPGQSPVLVIYDDNNRPSGIPERFSGSN

		SGNTATLTISGTQAMDEADYYCQSWDHSYSLV VFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQA NKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV ETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 32	ADN Cadena Ligera	TCGTACGAGCTCACTCAACCGCCTTCTGTGT CCGTGTCACCCGGGCAGACTGCCTCCATTAC CTGTTTCGGGAGATGCCCTGCGCGACAAGTTT GTGTACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGACAG TCGCCAGTGCTCGTCATCTATGACGACAACA ACAGACCTTCCGGTATCCCGGAACGGTTTCAG CGGAAGCAATTCCGGCAACACCGCTACCCTG ACCATTAGCGGCACTCAGGCCATGGACGAA GCGGATTACTACTGCCAATCCTGGGACCACT CATACTCCCTTGTGGTGTTCGGTGGCGGAAC GAAGCTGACCGTCCTGGGCCAGCCTAAGGC CGTCCCTCCGTGACCCTGTTCCCCCCCAGC TCCGAGGAACTGCAGGCCAACAAGGCCACC CTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTACCCTG GCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGCCGACA GCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGAGACAA CCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTA CGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACCCC CGAGCAGTGGAAGAGCCACAGAAGCTACAG CTGCCAGGTCACCCACGAGGGGCAGCACCGT GGAGAAAACCGTGGCCCCCACCAGAGTGCAG C
G4 E152_S375C		
SEQ ID NO: 33	HCDR1 (Combinada)	GGTFSTY AIS
SEQ ID NO: 34	HCDR2 (Combinada)	RIIPILG IANYAQKFQG
SEQ ID NO: 35	HCDR3 (Combinada)	EVRMIFDY
SEQ ID NO: 36	HCDR1 (Kabat)	TY AIS
SEQ ID NO: 34	HCDR2 (Kabat)	RIIPILG IANYAQKFQG
SEQ ID NO: 35	HCDR3 (Kabat)	EVRMIFDY
SEQ ID NO: 37	HCDR1 (Chothia)	GGTFSTY
SEQ ID NO: 38	HCDR2 (Chothia)	IPILGI
SEQ ID NO: 35	HCDR3(Chot hia)	EVRMIFDY
SEQ ID NO: 39	HCDR1 (IMGT)	GGTFSTYA
SEQ ID NO: 40	HCDR2 (IMGT)	IIPILGIA
SEQ ID NO: 41	HCDR3 (IMGT)	AREVRMIFDY

SEQ ID NO: 42	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGGTFST YAIWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA REVRMIFDYWGQGTLLTVSS
SEQ ID NO: 43	ADN VH	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAA GTGAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTA GCTGCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTTCTAC TTACGCTATCTCTTGGGTGCGCCAGGCCCCG GGCCAGGGCCTCGAGTGGATGGGCCGTATC ATCCCGATCCTGGGCATCGCGAACTACGCC CAGAAATTTAGGGCCGGGTGACCATTACCG CCGATGAAAGCACCAGCACCAGCCTATATGGA ACTGAGCAGCCTGCGCAGCGAAGATACGGC CGTGTATTATTGCGCGCGTGAAGTTCGTATG ATCTTCGATTACTGGGGCCAAGGCACCCTGG TGAAGTGTAGCTCA
SEQ ID NO: 44	Cadena Pesada	QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGGTFST YAIWVRQAPGQGLEWMGRIIPILGIANYAQKF QGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA REVRMIFDYWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPCPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 45	ADN Cadena Pesada	CAGGTGCAATTGGTGCAGAGCGGTGCCGAA GTGAAAAAACCGGGCAGCAGCGTGAAAGTTA GCTGCAAAGCATCCGGAGGGACGTTTTCTAC TTACGCTATCTCTTGGGTGCGCCAGGCCCCG GGCCAGGGCCTCGAGTGGATGGGCCGTATC ATCCCGATCCTGGGCATCGCGAACTACGCC CAGAAATTTAGGGCCGGGTGACCATTACCG CCGATGAAAGCACCAGCACCAGCCTATATGGA ACTGAGCAGCCTGCGCAGCGAAGATACGGC CGTGTATTATTGCGCGCGTGAAGTTCGTATG ATCTTCGATTACTGGGGCCAAGGCACCCTGG TGAAGTGTAGCTCAGCCTCTACGAAAGGCC AAGCGTATTTCCCCTGGCTCCTTCTAGTAAAT CAACCTCAGGTGGTACAGCAGCCCTTGGCT GCCTGGTCAAAGACTATTTCCCCTGTCCGGT GACCGTCTCATGGAAGTACAGGTGCTTTGACA TCTGGTGTGCATACATTCCCAGCTGTGCTGC AAAGTAGTGGACTGTACAGCCTTTCCAGCGT GGTCACGGTGCCAAGTAGCTCCTTGGGTACT CAGACTTATATCTGCAATGTGAACCACAAGC CCTCTAACACGAAGGTGGACAAGCGCGTGG

		AGCCCAAATCTTGCGATAAGACGCATACTTG TCCCCCATGCCCTGCTCCTGAGCTGTTGGGA GGCCCGTCAGTGTTCTTGTTCCCTCCGAAGC CTAAGGACACTTTGATGATAAGTAGGACACC AGAGGTGACTTGCGTGGTGGTTGATGTGTCC CATGAAGATCCCGAGGTCAAATTTAATTGGT ACGTAGATGGTGTCTGAAGTTCACAATGCTAA GACTAAGCCAAGGGAAGAGCAGTACAACAGT ACATATAGGGTAGTCTCCGTGCTGACAGTCC TCCACCAGGACTGGTTGAACGGCAAGGAATA CAAATGTAAGGTGTCAAACAAAGCTCTGCCT GCTCCCATTGAGAAAACAATCTCTAAAGCCA AAGGCCAGCCGAGAGAGCCCCAAGTCTACA CTTTGCCCCCGAGCAGGGAGGAAATGACCA AGAATCAGGTGAGTCTGACGTGCCTCGTCAA AGGATTTTATCCATGCGATATTGCAGTTGAAT GGGAGAGCAATGGCCAGCCAGAGAACAAC ATAAAACCACACCACCCGTGCTCGACTCTGA TGGCAGCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTGACA GTCGATAAATCTCGCTGGCAGCAAGGCAATG TGTTCTCCTGCTCCGTGCATGCACGAGGCTTT GCATAACCATTATACTCAAAAATCTCTGTCCC TGTCACCTGGTAAA
SEQ ID NO: 46	LCDR1 (Combinada)	RASQSISSYLA
SEQ ID NO: 47	LCDR2 (Combinada)	AASSLQS
SEQ ID NO: 48	LCDR3 (Combinada)	QQSYDYYT
SEQ ID NO: 46	LCDR1 (Kabat)	RASQSISSYLA
SEQ ID NO: 47	LCDR2 (Kabat)	AASSLQS
SEQ ID NO: 48	LCDR3 (Kabat)	QQSYDYYT
SEQ ID NO: 49	LCDR1 (Chothia)	SQSISSY
SEQ ID NO: 50	LCDR2 (Chothia)	AAS
SEQ ID NO: 51	LCDR3 (Chothia)	SYDYY
SEQ ID NO: 52	LCDR1 (IMGT)	QSISSY
SEQ ID NO: 50	LCDR2 (IMGT)	AAS
SEQ ID NO: 48	LCDR3 (IMGT)	QQSYDYYT
SEQ ID NO: 53	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYL AWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGS GSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQSYDYYTFG QGTEKVEIK

SEQ ID NO: 54	ADN VL	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGC CTGAGCGCCAGCGTGGGCGATCGCGTGACC ATTACCTGCAGAGCCAGCCAGTCTATTTCTT CTTACCTGGCTTGGTACCAGCAGAAACCGGG CAAAGCGCCGAAACTATTAATCTACGCTGCT TCTTCTCTGCAAAGCGGCGTGCCGAGCCGC TTTAGCGGCAGCGGATCCGGCACCGATTTC CCCTGACCATTAGCTCTCTGCAACCGGAAGA CTTTGCGACCTATTATTGCCAGCAGTCTTAC GACTACTACACCTTTGGCCAGGGCACGAAAG TTGAAATTAAA
SEQ ID NO: 55	Cadena Ligera	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQSISSYL AWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQSYDYFTG QGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 56	ADN Cadena Ligera	GATATCCAGATGACCCAGAGCCCGAGCAGC CTGAGCGCCAGCGTGGGCGATCGCGTGACC ATTACCTGCAGAGCCAGCCAGTCTATTTCTT CTTACCTGGCTTGGTACCAGCAGAAACCGGG CAAAGCGCCGAAACTATTAATCTACGCTGCT TCTTCTCTGCAAAGCGGCGTGCCGAGCCGC TTTAGCGGCAGCGGATCCGGCACCGATTTC CCCTGACCATTAGCTCTCTGCAACCGGAAGA CTTTGCGACCTATTATTGCCAGCAGTCTTAC GACTACTACACCTTTGGCCAGGGCACGAAAG TTGAAATTAAACGTACGGTGGCAGCTCCGTC TGTTTTCATCTTTCCACCTAGCGACGAGCAA CTCAAAAGTGGTACAGCATCCGTGTTTTGTC TGCTGAACAATTTTTACCCAGGGAGGCTAA GGTCCAGTGGAAAGTCGATAACGCTCTTCAG TCTGGCAACAGTCAGGAGAGCGTCACAGAG CAGGACTCTAAGGATAGCACTTATAGTCTGT CCTCCACGCTGACACTGTCTAAAGCGGATTA TGAGAAGCACAAGGTTTACGCCTGTGAGGTA ACGCACCAAGGACTCTCCTCCCCAGTTACCA AATCTTTCAACAGAGGAGAATGT
MOR024353 E152C_S375C		
SEQ ID NO: 57	HCDR1 (Combinada)	GGTFSDY AIS
SEQ ID NO: 58	HCDR2 (Combinada)	GIIPIFGDANYAQKFQG
SEQ ID NO: 59	HCDR3 (Combinada)	EGSSYFY MAY
SEQ ID NO: 60	HCDR1 (Kabat)	DY AIS
SEQ ID NO: 58	HCDR2 (Kabat)	GIIPIFGDANYAQKFQG

SEQ ID NO: 59	HCDR3 (Kabat)	EGSSYFYMAY
SEQ ID NO: 5	HCDR1 (Chothia)	GGTFSDY
SEQ ID NO: 61	HCDR2 (Chothia)	IPIFGD
SEQ ID NO: 59	HCDR3(Chot hia)	EGSSYFYMAY
SEQ ID NO: 7	HCDR1 (IMGT)	GGTFSDYA
SEQ ID NO: 62	HCDR2 (IMGT)	IPIFGDA
SEQ ID NO: 63	HCDR3 (IMGT)	AREGSSYFYMAY
SEQ ID NO: 64	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSD YAIWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGDANYAQK FQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYC AREGSSYFYMAYWGQGT LTVSS
SEQ ID NO: 65	ADN VH	CAGGTT CAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAA GTGAAGAAACCTGGCAGCAGCGTGAAGGTG TCCTGCAAAGCAAGCGGCGGCACCTTCAGC GATTACGCCATCTCTTGGGTCCGACAGGCCC CTGGACAAGGCTTGGAATGGATGGGCGGCA TCATCCCCATCTTCGGCGACGCCAATTACGC CCAGAAATTCCAGGGCAGAGTGACCATCACC GCCGACGAGTCTACAAGCACCGCCTACATG GAACTGAGCAGCCTGAGAAGCGAGGACACC GCCGTGTACTACTGTGCCAGAGAGGGCAGC AGCTACTTCTACATGGCCTATTGGGGCCAGG GCACCCTGGTCACAGTTAGCTCT
SEQ ID NO: 66	Cadena Pesada	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSD YAIWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGDANYAQK FQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYC AREGSSYFYMAYWGQGT LTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPCPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
SEQ ID NO: 67	ADN Cadena Pesada	CAGGTT CAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAA GTGAAGAAACCTGGCAGCAGCGTGAAGGTG TCCTGCAAAGCAAGCGGCGGCACCTTCAGC GATTACGCCATCTCTTGGGTCCGACAGGCCC CTGGACAAGGCTTGGAATGGATGGGCGGCA TCATCCCCATCTTCGGCGACGCCAATTACGC CCAGAAATTCCAGGGCAGAGTGACCATCACC

		GCCGACGAGTCTACAAGCACCGCCTACATG GAACTGAGCAGCCTGAGAAGCGAGGACACC GCCGTGTACTACTGTGCCAGAGAGGGCAGC AGCTACTTCTACATGGCCTATTGGGGCCAGG GCACCCTGGTCACAGTTAGCTCTGCTAGCAC CAAGGGCCCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCC CAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTGCT GCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCC CCTGTCCCGTGACAGTGTCTGGAAGTCTGG GGCTCTGACTTCCGGCGTGACACCTTCCCC GCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGC CTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGC TCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGCAACG TGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG ACAAGAGAGTGGAGCCCCAAGAGCTGCGACA AGACCCACACCTGCCCCCCTGCCAGCTC CAGAACTGCTGGGAGGGCCTTCCGTGTTCT GTTCCCCCACAAGCCAAGGACACCCTGAT GATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGT GGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCAGA GGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGT GGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAG AGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGT GGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGA CTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAA GTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCAATC GAAAAGACAATCAGCAAGGCCAAGGGCCAG CCACGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCC CCCAGCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAG GTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCT ACCCCTGTGATATCGCCGTGGAGTGGGAGA GCAACGGCCAGCCCGAGAACAACACTACAAGA CCACCCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCA GCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGA CAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTT CAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCA CAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTG AGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 68	LCDR1 (Combinada)	SGDNIGSKLAS
SEQ ID NO: 69	LCDR2 (Combinada)	DDSNRPS
SEQ ID NO: 70	LCDR3 (Combinada)	AATAGDRWAYV
SEQ ID NO: 68	LCDR1 (Kabat)	SGDNIGSKLAS
SEQ ID NO: 69	LCDR2 (Kabat)	DDSNRPS
SEQ ID NO: 70	LCDR3 (Kabat)	AATAGDRWAYV
SEQ ID NO: 71	LCDR1 (Chothia)	DNIGSKL

SEQ ID NO: 72	LCDR2 (Chothia)	DDS
SEQ ID NO: 73	LCDR3 (Chothia)	TAGDRWAY
SEQ ID NO: 74	LCDR1 (IMGT)	NIGSKL
SEQ ID NO: 72	LCDR2 (IMGT)	DDS
SEQ ID NO: 70	LCDR3 (IMGT)	AATAGDRWAYV
SEQ ID NO: 75	VL	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDNIGSKLAS WYQQKPGQAPVLVIYDDSNRPSGIPERFSGSN SGNTATLTISRAGDEADYYCAATAGDRWAY VFGGGTKLTVL
SEQ ID NO: 76	ADN VL	AGCTATGAGCTGACACAGCCTCTGTCCGTGT CTGTGGCTCTGGGACAGACCGCCAGAATCA CCTGTAGCGGCGACAACATCGGCAGCAAGC TGGCCTCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGACA GGCCCCTGTGCTGGTCATCTACGACGACAG CAATAGACCCAGCGGCATCCCCGAGAGATTC AGCGGCAGCAATAGCGGCAATACCGCCACA CTGACCATCAGCAGAGCACAGGCTGGCGAC GAGGCCGATTACTATTGTGCTGCCACAGCCG GCGACAGATGGGCCTATGTTTTTGGCGGCG GAACAAAGCTGACCGTGCTG
SEQ ID NO: 77	Cadena Ligera	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDNIGSKLAS WYQQKPGQAPVLVIYDDSNRPSGIPERFSGSN SGNTATLTISRAGDEADYYCAATAGDRWAY VFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQA NKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV ETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 78	ADN Cadena Ligera	AGCTATGAGCTGACACAGCCTCTGTCCGTGT CTGTGGCTCTGGGACAGACCGCCAGAATCA CCTGTAGCGGCGACAACATCGGCAGCAAGC TGGCCTCTTGGTATCAGCAGAAGCCTGGACA GGCCCCTGTGCTGGTCATCTACGACGACAG CAATAGACCCAGCGGCATCCCCGAGAGATTC AGCGGCAGCAATAGCGGCAATACCGCCACA CTGACCATCAGCAGAGCACAGGCTGGCGAC GAGGCCGATTACTATTGTGCTGCCACAGCCG GCGACAGATGGGCCTATGTTTTTGGCGGCG GAACAAAGCTGACCGTGCTGGGACAGCCTA AGGCCGCTCCCTCCGTGACCGTGTTCCCCC CCAGCTCCGAGGAACTGCAGGCCAACAAGG CCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTA CCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGC CGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGCGCTGGA GACAACCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAA CAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCT GACCCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGAAG

		CTACAGCTGCCAGGTCACCCACGAGGGGCAG CACCGTGGAGAAAACCGTGGCCCCCACC GTGCAGC
MOR024354 E152C_S375C		
SEQ ID NO: 79	HCDR1 (Combinada)	GFTFSSFGMS
SEQ ID NO: 80	HCDR2 (Combinada)	AISYSGSDTYADSVKG
SEQ ID NO: 81	HCDR3 (Combinada)	DVGVM DY
SEQ ID NO: 82	HCDR1 (Kabat)	SFGMS
SEQ ID NO: 80	HCDR2 (Kabat)	AISYSGSDTYADSVKG
SEQ ID NO: 81	HCDR3 (Kabat)	DVGVM DY
SEQ ID NO: 83	HCDR1 (Chothia)	GFTFSSF
SEQ ID NO: 84	HCDR2 (Chothia)	SYSGSD
SEQ ID NO: 81	HCDR3(Chot hia)	DVGVM DY
SEQ ID NO: 85	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSFG
SEQ ID NO: 86	HCDR2 (IMGT)	ISYSGSDT
SEQ ID NO: 87	HCDR3 (IMGT)	ARDVGVM DY
SEQ ID NO: 88	VH	QVQLLES G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S S F G M S W V R Q A P G K G L E W V S A I S Y S G S D T Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R D V G V M D Y W G Q G T L V T V S S
SEQ ID NO: 89	ADN VH	CAGGTT CAGCTGCTGGAATCTGGCGGAGGA CTGGTTCAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGT CTTG TGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAG CTTTGGCATGAGCTGGGTCCGACAGGCCCC TG G C A A A G G A C T T G A A T G G G T G T C C G C C A T C A G C T A C A G C G G C A G C G A T A C C T A C T A C G C C G A C A G C G T G A A G G G C A G A T T C A C C A T C T C C A G A G A C A A C A G C A A G A A C A C C C T G T A C C T G C A G A T G A A C A G C C T G A G A G C C G A G G A C A C C G C C G T G T A C T A C T G T G C C A G A G A T G T G G G C G T G A T G G A C T A T T G G G G C C A G G G C A C A C T G G T C A C C G T T A G C T C T
SEQ ID NO: 90	Cadena Pesada	QVQLLES G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S S F G M S W V R Q A P G K G L E W V S A I S Y S G S D T Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R D V G V M D Y W G Q G T L V T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P C P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K R V E P K S C D K T H

		TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK
SEQ ID NO: 91	ADN Cadena Pesada	CAGGTTCACTGCTGGAATCTGGCGGAGGACTGGTTCAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAGCTTTGGCATGAGCTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGACTTGAATGGGTGTCCGCCATCAGCTACAGCGGCAGCGATACCTACTACGCCGACAGCGTGAAGGGCAGATTCACCATCTCCAGAGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAGAGATGTGGGCGTGATGGACTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTCACCGTTAGCTCTGCTAGCACCAAGGGCCCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAAGTCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCTGTCCCCTGACAGTGTCTGGAAGTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCAGCTCCAGAACTGTGGGAGGGCCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCACAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTGTGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACACCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTACGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTA

		CACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCCGG CAAG
SEQ ID NO: 92	LCDR1 (Combinada)	SGDNLGTYAH
SEQ ID NO: 93	LCDR2 (Combinada)	SQSHRPS
SEQ ID NO: 94	LCDR3 (Combinada)	GAWDAPSPELV
SEQ ID NO: 92	LCDR1 (Kabat)	SGDNLGTYAH
SEQ ID NO: 93	LCDR2 (Kabat)	SQSHRPS
SEQ ID NO: 94	LCDR3 (Kabat)	GAWDAPSPELV
SEQ ID NO: 95	LCDR1 (Chothia)	DNLGTY
SEQ ID NO: 96	LCDR2 (Chothia)	SQS
SEQ ID NO: 97	LCDR3 (Chothia)	WDAPSPEL
SEQ ID NO: 98	LCDR1 (IMGT)	NLGTY
SEQ ID NO: 96	LCDR2 (IMGT)	SQS
SEQ ID NO: 94	LCDR3 (IMGT)	GAWDAPSPELV
SEQ ID NO: 99	VL	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDNLGTYAH WYQQKPGQAPVLVIYSQSHRPSGIPERFSGSN SGNTATLTISRAGDEADYYCGAWDAPSPEL VFGGGTKLTVL
SEQ ID NO: 100	ADN VL	AGCTATGAGCTGACACAGCCTCTGTCCGTGT CTGTGGCTCTGGGACAGACCGCCAGAATCA CCTGTAGCGGCGATAACCTGGGCACCTACTA CGCCCACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGACA GGCTCCCGTGCTGGTCATCTACAGCCAGTCT CACAGACCCAGCGGCATCCCCGAGAGATTC AGCGGCAGCAATAGCGGCAATACCGCCACA CTGACCATCAGCAGAGCACAGGCTGGCGAC GAGGCCGATTACTATTGTGGCGCTTGGGAC GCCCCATCTCCTGAGCTTGTTTTTGGCGGAG GCACCAAGCTGACAGTGCTG
SEQ ID NO: 101	Cadena Ligera	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGDNLGTYAH WYQQKPGQAPVLVIYSQSHRPSGIPERFSGSN SGNTATLTISRAGDEADYYCGAWDAPSPEL VFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQA NKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGV ETTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
SEQ ID NO: 102	ADN Cadena Ligera	AGCTATGAGCTGACACAGCCTCTGTCCGTGT CTGTGGCTCTGGGACAGACCGCCAGAATCA CCTGTAGCGGCGATAACCTGGGCACCTACTA CGCCCACTGGTATCAGCAGAAGCCTGGACA

		GGCTCCCGTGCTGGTCATCTACAGCCAGTCT CACAGACCCAGCGGCATCCCCGAGAGATT AGCGGCAGCAATAGCGGCAATACCGCCACA CTGACCATCAGCAGAGCACAGGCTGGCGAC GAGGCCGATTACTATTGTGGCGCTTGGGAC GCCCCATCTCCTGAGCTTGTTTTTGGCGGAG GCACCAAGCTGACAGTGCTGGGACAGCCTA AGGCCGCTCCCTCCGTGACCCTGTTCCCCC CCAGCTCCGAGGAACTGCAGGCCAACAAGG CCACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTTCTA CCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGGAAGGC CGACAGCAGCCCCGTGAAGGCCGGCGTGGA GACAACCACCCCCAGCAAGCAGAGCAACAA CAAGTACGCCGCCAGCAGCTACCTGAGCCT GACCCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGAAG CTACAGCTGCCAGGTCACCCACGAGGGCAG CACCGTGGAGAAAACCGTGGCCCCCACC GTGCAGC
Y010341 E152C_S375C		
SEQ ID NO: 103	HCDR1 (Combinada)	GFTFSSYAMS
SEQ ID NO: 104	HCDR2 (Combinada)	AISGSGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 105	HCDR3 (Combinada)	AFRLYWLDV
SEQ ID NO: 106	HCDR1 (Kabat)	SYAMS
SEQ ID NO: 104	HCDR2 (Kabat)	AISGSGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 105	HCDR3 (Kabat)	AFRLYWLDV
SEQ ID NO: 107	HCDR1 (Chothia)	GFTFSSY
SEQ ID NO: 108	HCDR2 (Chothia)	SGSGGS
SEQ ID NO: 105	HCDR3(Chot hia)	AFRLYWLDV
SEQ ID NO: 109	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSYA
SEQ ID NO: 110	HCDR2 (IMGT)	ISGSGGST
SEQ ID NO: 111	HCDR3 (IMGT)	ARAFRLYWLDV
SEQ ID NO: 112	VH	EVQLLES GGGLVQP GGS LRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYY CARAFRLYWLDVWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 113	ADN VH	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGAGGA CTGGTTCAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGT CTTG TGCCGCCAGCGGCTTCACCTTTAGCAG CTACGCCATGAGCTGGGTCCGACAGGCTCC TG GCAAAGGCCTTGAATGGGTGTCCGCCATC

		TCTGGCTCTGGCGGCAGCACATATTACGCCG ACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCG GGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCC GTGTACTATTGTGCCAGAGCCTTCCGGCTGT ACTGGCTGGATGTTTGGGGACAGGGCACCC TGGTCACAGTGTCATCT
SEQ ID NO: 114	Cadena Pesada	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARAFRLYWLDVWGQGLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPCPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIAVEWE SNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
SEQ ID NO: 115	ADN Cadena Pesada	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGAGGA CTGGTTCAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGT CTTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTTAGCAG CTACGCCATGAGCTGGGTCCGACAGGCTCC TGGCAAAGGCCTTGAATGGGTGTCCGCCATC TCTGGCTCTGGCGGCAGCACATATTACGCCG ACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCG GGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCC GTGTACTATTGTGCCAGAGCCTTCCGGCTGT ACTGGCTGGATGTTTGGGGACAGGGCACCC TGGTCACAGTGTCATCTGCTAGCACCAAGGG CCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCCAGCAG CAAGTCTACTTCCGGCGGAAGTCTGCCCTG GGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCTGTC CCGTGACAGTGTCTGGAAGTCTGGGGCTCT GACTTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGT GCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAG CAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCT GGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAAC CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAG AGAGTGGAGCCCCAAGAGCTGCGACAAGACC CACACCTGCCCCCCTGCCAGCTCCAGAA CTGCTGGGAGGGCCTTCCGTGTTCTGTTCC CCCCAAGCCCCAAGGACACCCTGATGATCA GCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGG TGGACGTGTCCCACGAGGACCCAGAGGTGA AGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG TGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGG

		AGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTC CGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCT GAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTCC AACAAGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGA CAATCAGCAAGGCCAAGGGGCCAGCCACGGG AGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCC GGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCC TGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTG TGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGG CCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCC CCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTT CCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCC AGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGC AGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCAC TACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCC GGCAAG
SEQ ID NO: 116	LCDR1 (Combinada)	RASQSISSYLN
SEQ ID NO: 47	LCDR2 (Combinada)	AASSLQS
SEQ ID NO: 117	LCDR3 (Combinada)	QQVYSAPVT
SEQ ID NO: 116	LCDR1 (Kabat)	RASQSISSYLN
SEQ ID NO: 47	LCDR2 (Kabat)	AASSLQS
SEQ ID NO: 117	LCDR3 (Kabat)	QQVYSAPVT
SEQ ID NO: 49	LCDR1 (Chothia)	SQSISSY
SEQ ID NO: 50	LCDR2 (Chothia)	AAS
SEQ ID NO: 118	LCDR3 (Chothia)	VYSAPV
SEQ ID NO: 52	LCDR1 (IMGT)	QSISSY
SEQ ID NO: 50	LCDR2 (IMGT)	AAS
SEQ ID NO: 117	LCDR3 (IMGT)	QQVYSAPVT
SEQ ID NO: 119	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYL NWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQVYSAPVTF GQGTKVEIK
SEQ ID NO: 120	ADN VL	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGC CTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCA GCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCCG GCAAGGCCCCCTAAACTGCTGATCTATGCCGC CAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAAGCAG ATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTC ACCCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAGG

		ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGTCTA CAGCGCCCCTGTGACATTTGGCCAGGGCAC CAAGGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 121	Cadena Ligera	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYL NWKYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQVYSAPVTF GQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 122	ADN Cadena Ligera	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGC CTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCA GCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCCG GCAAGGCCCCCTAACTGCTGATCTATGCCGC CAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAAGCAG ATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTC ACCCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAGG ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGTCTA CAGCGCCCCTGTGACATTTGGCCAGGGCAC CAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGC TCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCCAGCGAC GAGCAGCTGAAGAGTGGCACCGCCAGCGTG GTGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGG AGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACG CCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCG TCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT ACAGCCTGAGCAGCACCCCTGACCCTGAGCA AGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACG CCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCG AGTGC
Y010355 E152C_S375C		
SEQ ID NO: 123	HCDR1 (Combinada)	GFTFSNYWIS
SEQ ID NO: 124	HCDR2 (Combinada)	RIKSKTYGGTTDYAEPVKG
SEQ ID NO: 125	HCDR3 (Combinada)	TSRRSYAFDY
SEQ ID NO: 126	HCDR1 (Kabat)	NYWIS
SEQ ID NO: 124	HCDR2 (Kabat)	RIKSKTYGGTTDYAEPVKG
SEQ ID NO: 125	HCDR3 (Kabat)	TSRRSYAFDY
SEQ ID NO: 127	HCDR1 (Chothia)	GFTFSNY
SEQ ID NO: 128	HCDR2 (Chothia)	KSKTYGGT
SEQ ID NO: 125	HCDR3(Chot hia)	TSRRSYAFDY

SEQ ID NO: 129	HCDR1 (IMGT)	GFTFSNYW
SEQ ID NO: 130	HCDR2 (IMGT)	IKSKTYGGTT
SEQ ID NO: 131	HCDR3 (IMGT)	ARTSRRSYAFDY
SEQ ID NO: 132	VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNY WISWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTYGGTTDYA EPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCARTSRRSYAFDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 133	ADN VH	GAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGGA CTTGTGAAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGA GCTGTGCCGCTTCCGGCTTCACCTTCAGCAA CTACTGGATCAGCTGGGTCCGACAGGCCCC TGGCAAAGGACTTGAGTGGGTCCGACGGAT CAAGAGCAAGACCTACGGCGGCACCACCGA TTATGCCGAGCCTGTGAAGGGCAGATTACC ATCAGCCGGGACGACAGCAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAACAGCCTGAAAACCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAACCA GCAGAAGAAGCTACGCCTTCGACTACTGGG GCCAGGGCACACTGGTTACCGTTAGCTCT
SEQ ID NO: 134	Cadena Pesada	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNY WISWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTYGGTTDYA EPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCARTSRRSYAFDYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPCPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
SEQ ID NO: 135	ADN Cadena Pesada	GAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGGA CTTGTGAAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGA GCTGTGCCGCTTCCGGCTTCACCTTCAGCAA CTACTGGATCAGCTGGGTCCGACAGGCCCC TGGCAAAGGACTTGAGTGGGTCCGACGGAT CAAGAGCAAGACCTACGGCGGCACCACCGA TTATGCCGAGCCTGTGAAGGGCAGATTACC ATCAGCCGGGACGACAGCAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAACAGCCTGAAAACCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAACCA GCAGAAGAAGCTACGCCTTCGACTACTGGG GCCAGGGCACACTGGTTACCGTTAGCTCTGC TAGCACCAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTG GCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGA

		ACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGAC TACTTCCCCTGTCCCGTGACAGTGTCTGGA ACTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGACACA CCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCC TGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGC CCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGC TGCACAAAGACCCACACCTGCCCCCCTGC CCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCTTCC GTGTTCTGTTCCTCCCCCAAGCCAAGGACA CCCTGATGATCAGCAGGACCCCGAGGTGA CCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGG ACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGA CGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAA GCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTA CAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA CCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAA GTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGC CCCAATCGAAAAGACAATCAGCAAGGCCAAG GGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACC CTGCCCCCAGCCGGGAGGAGATGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGG GCTTCTACCCCTGTGATATCGCCGTGGAGTG GGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAATA CAAGACCACCCCCCAGTGCTGGACAGCGA CGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACC GTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAAC GTGTTCAAGTGCAGCGTGATGCACGAGGCC CTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGA GCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 136	LCDR1 (Combinada)	RASQSISSWLA
SEQ ID NO: 137	LCDR2 (Combinada)	DASSLES
SEQ ID NO: 138	LCDR3 (Combinada)	QQITRYPVT
SEQ ID NO: 136	LCDR1 (Kabat)	RASQSISSWLA
SEQ ID NO: 137	LCDR2 (Kabat)	DASSLES
SEQ ID NO: 138	LCDR3 (Kabat)	QQITRYPVT
SEQ ID NO: 139	LCDR1 (Chothia)	SQSISSW
SEQ ID NO: 140	LCDR2 (Chothia)	DAS
SEQ ID NO: 141	LCDR3 (Chothia)	ITRYPV
SEQ ID NO: 142	LCDR1 (IMGT)	QSISSW

SEQ ID NO: 140	LCDR2 (IMGT)	DAS
SEQ ID NO: 138	LCDR3 (IMGT)	QQITRYPVT
SEQ ID NO: 143	VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWL AWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGS GSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQITRYPVTF GQGTKVEIK
SEQ ID NO: 144	ADN VL	GACATCCAGATGACACAGAGCCCCAGCACACA CTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCTCCT CTTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTG GCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACGATGC CAGCAGCCTGGAAAGCGGCGTGCCAAGCAG ATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGAGTTC ACCCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAGG ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGATCAC AAGATACCCCGTGACCTTTGGCCAGGGGCAC CAAGGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 145	Cadena Ligera	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWL AWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGS GSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQITRYPVTF GQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 146	ADN Cadena Ligera	GACATCCAGATGACACAGAGCCCCAGCACACA CTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCTCCT CTTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTG GCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACGATGC CAGCAGCCTGGAAAGCGGCGTGCCAAGCAG ATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGAGTTC ACCCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAGG ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGATCAC AAGATACCCCGTGACCTTTGGCCAGGGGCAC CAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGC TCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGAC GAGCAGCTGAAGAGTGGCACCGCCAGCGTG GTGTGCCTGCTGAACAATTCTACCCCCGGG AGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACG CCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCG TCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT ACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCA AGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACG CCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCG AGTGC
Y010356 E152C_S375C		
SEQ ID NO: 123	HCDR1 (Combinada)	GFTFSNYWIS

SEQ ID NO: 124	HCDR2 (Combinada)	RIKSKTYGGTTDYAEPVKG
SEQ ID NO: 147	HCDR3 (Combinada)	VSGYYSHSGGFDV
SEQ ID NO: 126	HCDR1 (Kabat)	NYWIS
SEQ ID NO: 124	HCDR2 (Kabat)	RIKSKTYGGTTDYAEPVKG
SEQ ID NO: 147	HCDR3 (Kabat)	VSGYYSHSGGFDV
SEQ ID NO: 127	HCDR1 (Chothia)	GFTFSNY
SEQ ID NO: 128	HCDR2 (Chothia)	KSKTYGGT
SEQ ID NO: 147	HCDR3(Chot hia)	VSGYYSHSGGFDV
SEQ ID NO: 129	HCDR1 (IMGT)	GFTFSNYW
SEQ ID NO: 130	HCDR2 (IMGT)	IKSKTYGGTT
SEQ ID NO: 148	HCDR3 (IMGT)	ARVSGYYSHSGGFDV
SEQ ID NO: 149	VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNY WISWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTYGGTTDYA EPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCARVSGYYSHSGGFDVWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 150	ADN VH	GAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGGA CTTGTGAAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGA GCTGTGCCGCTTCCGGCTTCACCTTCAGCAA CTACTGGATCAGCTGGGTCCGACAGGCCCC TGGCAAAGGACTTGAGTGGGTCCGACGGAT CAAGAGCAAGACCTACGGCGGCACCACCGA TTATGCCGAGCCTGTGAAGGGCAGATTCACC ATCAGCCGGGACGACAGCAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAACAGCCTGAAAACCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGTGTC TGGCTACTACTCTCACAGCGGCGGCTTTGAT GTGTGGGGCCAGGGAACACTGGTCACCGTT AGTTCT
SEQ ID NO: 151	Cadena Pesada	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNY WISWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTYGGTTDYA EPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCARVSGYYSHSGGFDVWGQGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPC PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKL

		TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
SEQ ID NO: 152	ADN Cadena Pesada	GAAGTGCAGCTGGTGGAAATCTGGCGGCGGA CTTGTGAAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGA GCTGTGCCGCTTCCGGCTTCACCTTCAGCAA CTACTGGATCAGCTGGGTCCGACAGGCCCC TGGCAAAGGACTTGAGTGGGTCCGACGGAT CAAGAGCAAGACCTACGGCGGCACCACCGA TTATGCCGAGCCTGTGAAGGGCAGATTACC ATCAGCCGGGACGACAGCAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAACAGCCTGAAAACCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGTGTC TGGCTACTACTCTCACAGCGGCGGCTTTGAT GTGTGGGGCCAGGGAACACTGGTCACCGTT AGTTCTGCTAGCACCAAGGGCCCAAGTGTGT TTCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTC CGGCGGAAGTGTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGT GAAGGACTACTTCCCCTGTCCCGTGACAGTG TCCTGGAAGTCTGGGGCTCTGACTTCCGGC GTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGC AGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTG ACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGA CCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAG CAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCC CAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCC CCCCTGCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGG GCCTTCCGTGTTCTGTCCCCCCCCAAGCCC AAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCC GAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCC CACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGG TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCC AAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAAC AGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACC GTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAA GAATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCC TGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAGCAA GGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGG TGTACACCCTGCCCCCAGCCGGGAGGAGA TGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCT GGTGAAGGGCTTCTACCCCTGTGATATCGCC GTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAG AACAACTACAAGACCACCCCCCAGTGCTGG ACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAA GCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCA GGGCAACGTGTTCACTGTCAGCGTGATGCA CGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 153	LCDR1 (Combinada)	RASQGISNYLA
SEQ ID NO: 154	LCDR2 (Combinada)	AASTLQS

SEQ ID NO: 155	LCDR3 (Combinada)	QKTWRTPGT
SEQ ID NO: 153	LCDR1 (Kabat)	RASQGISNYLA
SEQ ID NO: 154	LCDR2 (Kabat)	AASTLQS
SEQ ID NO: 155	LCDR3 (Kabat)	QKTWRTPGT
SEQ ID NO: 156	LCDR1 (Chothia)	SQGISNY
SEQ ID NO: 50	LCDR2 (Chothia)	AAS
SEQ ID NO: 157	LCDR3 (Chothia)	TWRTPG
SEQ ID NO: 158	LCDR1 (IMGT)	QGISNY
SEQ ID NO: 50	LCDR2 (IMGT)	AAS
SEQ ID NO: 155	LCDR3 (IMGT)	QKTWRTPGT
SEQ ID NO: 159	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISNYL AWYQQKPGKVPKLLIYAASLTQSGVPSRFGS GSGTDFLTITSLQPEDVATYYCQKTWRTPGT FGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 160	ADN VL	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGC CTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCAGCCAGGGCATCAGC AACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCCG GCAAGGTGCCCAAGCTGCTGATCTACGCTG CCAGCACACTGCAGAGCGGAGTGCCTAGCA GATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGATTT CACCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAG GACGTGGCCACCTACTACTGTCAGAAAACCT GGCGGACCCCTGGCACATTTGGCCAGGGAA CAAAGGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 161	Cadena Ligera	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISNYL AWYQQKPGKVPKLLIYAASLTQSGVPSRFGS GSGTDFLTITSLQPEDVATYYCQKTWRTPGT FGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPRKAVQWVKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 162	ADN Cadena Ligera	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGC CTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCAGCCAGGGCATCAGC AACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCCG GCAAGGTGCCCAAGCTGCTGATCTACGCTG CCAGCACACTGCAGAGCGGAGTGCCTAGCA GATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGATTT CACCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAG GACGTGGCCACCTACTACTGTCAGAAAACCT GGCGGACCCCTGGCACATTTGGCCAGGGAA

		CAAAGGTGGAATCAAGCGTACGGTGGCCG CTCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCAGCGA CGAGCAGCTGAAGAGTGGCACC GCCAGCGT GGTGTGCCTGCTGAACA ACTTCTACCCCGG GAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGACAAC GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGC GTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACC TACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGC AAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTAC GCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCC AGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGC GAGTGC
Y010415 E152C_S375C		
SEQ ID NO: 103	HCDR1 (Combinada)	GFTFSSYAMS
SEQ ID NO: 104	HCDR2 (Combinada)	AISGSGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 163	HCDR3 (Combinada)	SRLIAPWLDY
SEQ ID NO: 106	HCDR1 (Kabat)	SYAMS
SEQ ID NO: 104	HCDR2 (Kabat)	AISGSGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 163	HCDR3 (Kabat)	SRLIAPWLDY
SEQ ID NO: 107	HCDR1 (Chothia)	GFTFSSY
SEQ ID NO: 108	HCDR2 (Chothia)	SGSGGS
SEQ ID NO: 163	HCDR3(Chot hia)	SRLIAPWLDY
SEQ ID NO: 109	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSYA
SEQ ID NO: 110	HCDR2 (IMGT)	ISGSGGST
SEQ ID NO: 164	HCDR3 (IMGT)	ARSRLIAPWLDY
SEQ ID NO: 165	VH	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARSR LIAPWLDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 166	ADN VH	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGAGGA CTGGTTCAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGT CTTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTTAGCAG CTACGCCATGAGCTGGGTCCGACAGGCTCC TGGCAAAGGCCTTGAATGGGTGTCCGCCATC TCTGGCTCTGGCGGCAGCACATATTACGCCG ACTCTGTGAAGGGCAGATTACCATCAGCCG GGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCC GTGTACTACTGTGCCAGAAGCAGACTGATCG

		CCCCTTGGCTGGATTATTGGGGCCAGGGCA CACTGGTCACCGTGTCATCT
SEQ ID NO: 167	Cadena Pesada	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSY AMSWVRQAPGKGLEWWSAISGSGGSTYYADS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARSRLIAPWLDYWGQGLTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPCPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
SEQ ID NO: 168	ADN Cadena Pesada	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGAGGA CTGGTTCAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGT CTTGTCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTTAGCAG CTACGCCATGAGCTGGGTCCGACAGGCTCC TGGCAAAGGCCTTGAATGGGTGTCCGCCATC TCTGGCTCTGGCGGCAGCACATATTACGCCG ACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCG GGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCC GTGTACTACTGTGCCAGAAGCAGACTGATCG CCCCTTGGCTGGATTATTGGGGCCAGGGCA CACTGGTCACCGTGTCATCTGCTAGCACCAA GGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCCAG CAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTGCTGCC CTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCT GTCCCGTGACAGTGTCTTGAAGTCTGGGG CTCTGACTTCCGGCGTGACACCTTCCCCGC CGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCT GAGCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTC TCTGGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGTG AACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC AAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAG ACCCACACCTGCCCCCCTGCCAGCTCCA GAACTGCTGGGAGGGCCTTCCGTGTTCTGT TCCCCCACAAGCCCAAGGACACCCTGATGAT CAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGT GGTGGACGTGTCCACGAGGACCCAGAGGT GAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGA GGTGCAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGA GGAGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGT GTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAAGTC TCCAACAAGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAA AGACAATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCAC

		GGGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCA GCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGT CCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCC CTGTGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA CGGCCAGCCCGAGAACAACACTACAAGACCAC CCCCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTT CTTCCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAG TCCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGC TGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAAC CACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCC CCGGCAAG
SEQ ID NO: 116	LCDR1 (Combinada)	RASQSISSYLN
SEQ ID NO: 47	LCDR2 (Combinada)	AASSLQS
SEQ ID NO: 169	LCDR3 (Combinada)	QQVYGSPT
SEQ ID NO: 116	LCDR1 (Kabat)	RASQSISSYLN
SEQ ID NO: 47	LCDR2 (Kabat)	AASSLQS
SEQ ID NO: 169	LCDR3 (Kabat)	QQVYGSPT
SEQ ID NO: 49	LCDR1 (Chothia)	SQSISSY
SEQ ID NO: 50	LCDR2 (Chothia)	AAS
SEQ ID NO: 170	LCDR3 (Chothia)	VYGSPP
SEQ ID NO: 52	LCDR1 (IMGT)	QSISSY
SEQ ID NO: 50	LCDR2 (IMGT)	AAS
SEQ ID NO: 169	LCDR3 (IMGT)	QQVYGSPT
SEQ ID NO: 171	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQSISSYL NWFYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGS GSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQVYGSPTF GGGTKVEIK
SEQ ID NO: 172	ADN VL	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGC CTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCA GCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCG GCAAGGCCCTAAACTGCTGATCTATGCCGC CAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAAGCAG ATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTC ACCCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAGG ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGTCTA CGGCAGCCCTCCTACATTTGGCCAGGGCAC CAAGGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 173	Cadena Ligera	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQSISSYL NWFYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGS

		GSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQVYGSPPTF GQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 174	ADN Cadena Ligera	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGC CTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCA GCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCG GCAAGGCCCTAACTGCTGATCTATGCCGC CAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAAGCAG ATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTC ACCCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAGG ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGTCTA CGGCAGCCCTCCTACATTTGGCCAGGGCAC CAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGC TCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGAC GAGCAGCTGAAGAGTGGCACCGCCAGCGTG GTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCCGGG AGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACG CCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCG TCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT ACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCA AGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACG CCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCG AGTGC
Y010417 E152C_S375C		
SEQ ID NO: 175	HCDR1 (Combinada)	GYSFTSYWIG
SEQ ID NO: 176	HCDR2 (Combinada)	IIYPGDS DTRYSPSFQG
SEQ ID NO: 177	HCDR3 (Combinada)	GSSAASGLSGDL
SEQ ID NO: 178	HCDR1 (Kabat)	SYWIG
SEQ ID NO: 176	HCDR2 (Kabat)	IIYPGDS DTRYSPSFQG
SEQ ID NO: 177	HCDR3 (Kabat)	GSSAASGLSGDL
SEQ ID NO: 179	HCDR1 (Chothia)	GYSFTSY
SEQ ID NO: 180	HCDR2 (Chothia)	YPGDSD
SEQ ID NO: 177	HCDR3(Chot hia)	GSSAASGLSGDL
SEQ ID NO: 181	HCDR1 (IMGT)	GYSFTSYW
SEQ ID NO: 182	HCDR2 (IMGT)	IYPGDSDT
SEQ ID NO: 183	HCDR3 (IMGT)	ARGSSAASGLSGDL

SEQ ID NO: 184	VH	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSY WIGWVRQMPGKGLEWMGIIPGDS DTRYSPS FQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYC ARGSSAASGLSGDLWGQGT LVTVSS
SEQ ID NO: 185	ADN VH	GAAGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAA GTGAAGAAGCCTGGCGAGAGCCTGAAGATC TCCTGCAAAGGCAGCGGCTACAGCTTCACCA GCTACTGGATCGGCTGGGTCCGACAGATGC CTGGCAAAGGCCTTGAGTGGATGGGCATCAT CTACCCCGGCGACAGCGACACCAGATACAG CCCTAGCTTTCAGGGCCAAGTGACCATCAGC GCCGACAAGAGCATCAGCACAGCCTACCTG CAGTGGTCCAGCCTGAAGGCCTCTGACACC GCCATGTACTACTGTGCCAGAGGAAGCTCTG CCGCCTCTGGACTGTCTGGCGATCTTTGGG GACAGGGCACACTGGTCACAGTGTCTAGT
SEQ ID NO: 186	Cadena Pesada	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSY WIGWVRQMPGKGLEWMGIIPGDS DTRYSPS FQGQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYC ARGSSAASGLSGDLWGQGT LVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPCPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDSGSFFLYSLKTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
SEQ ID NO: 187	ADN Cadena Pesada	GAAGTTCAGCTGGTGCAGTCTGGCGCCGAA GTGAAGAAGCCTGGCGAGAGCCTGAAGATC TCCTGCAAAGGCAGCGGCTACAGCTTCACCA GCTACTGGATCGGCTGGGTCCGACAGATGC CTGGCAAAGGCCTTGAGTGGATGGGCATCAT CTACCCCGGCGACAGCGACACCAGATACAG CCCTAGCTTTCAGGGCCAAGTGACCATCAGC GCCGACAAGAGCATCAGCACAGCCTACCTG CAGTGGTCCAGCCTGAAGGCCTCTGACACC GCCATGTACTACTGTGCCAGAGGAAGCTCTG CCGCCTCTGGACTGTCTGGCGATCTTTGGG GACAGGGCACACTGGTCACAGTGTCTAGTG CTAGCACCAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCT GGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGG AACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGA CTACTTCCCCTGTCCCGTGACAGTGTCTGG AACTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGCACA CCTTCCCCGCGGTGCTGCAGAGCAGCGGCC TGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGC CCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATAT

		CTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGC TGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGC CCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCTTCC GTGTTCTGTTCCCCCCTAAGCCCAAGGACA CCCTGATGATCAGCAGGACCCCGAGGTGA CCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGG ACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGA CGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAA GCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTA CAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA CCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAA GTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGC CCCAATCGAAAAGACAATCAGCAAGGCCAAG GGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACC CTGCCCCCAGCCGGGAGGAGATGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGG GCTTCTACCCCTGTGATATCGCCGTGGAGTG GGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAATA CAAGACCACCCCCCAGTGCTGGACAGCGA CGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACC GTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAAC GTGTTCACTGCAGCGTGATGCACGAGGCC CTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGA GCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 116	LCDR1 (Combinada)	RASQSISSYLN
SEQ ID NO: 47	LCDR2 (Combinada)	AASSLQS
SEQ ID NO: 188	LCDR3 (Combinada)	QQDYYSPT
SEQ ID NO: 116	LCDR1 (Kabat)	RASQSISSYLN
SEQ ID NO: 47	LCDR2 (Kabat)	AASSLQS
SEQ ID NO: 188	LCDR3 (Kabat)	QQDYYSPT
SEQ ID NO: 49	LCDR1 (Chothia)	SQSISSY
SEQ ID NO: 50	LCDR2 (Chothia)	AAS
SEQ ID NO: 189	LCDR3 (Chothia)	DYYSPT
SEQ ID NO: 52	LCDR1 (IMGT)	QSISSY
SEQ ID NO: 50	LCDR2 (IMGT)	AAS
SEQ ID NO: 188	LCDR3 (IMGT)	QQDYYSPT
SEQ ID NO: 190	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQSISSYL NWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFGS

		GS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQDYYSPTF GQGTKVEIK
SEQ ID NO: 191	ADN VL	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGC CTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCA GCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCG GCAAGGCCCCCTAACTGCTGATCTATGCCGC CAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAAGCAG ATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTC ACCCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAGG ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACTA CTACAGCCCCTTCACCTTTGGCCAGGGCACC AAGGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 192	Cadena Ligera	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISSYL NWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS GS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQDYYSPTF GQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 193	ADN Cadena Ligera	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGC CTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCA GCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCG GCAAGGCCCCCTAACTGCTGATCTATGCCGC CAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAAGCAG ATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTC ACCCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAGG ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGGACTA CTACAGCCCCTTCACCTTTGGCCAGGGCACC AAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCT CCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGACG AGCAGCTGAAGAGTGGCACCGCCAGCGTGG TGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGA GGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGC CCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGT CACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTA CAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAA GGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGC CTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAG CCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGA GTGC
Y010429 E152C_S375C		
SEQ ID NO: 103	HCDR1 (Combinada)	GFTFSSYAMS
SEQ ID NO: 104	HCDR2 (Combinada)	AISGSGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 194	HCDR3 (Combinada)	AYKLSWLDL
SEQ ID NO: 106	HCDR1 (Kabat)	SYAMS

SEQ ID NO: 104	HCDR2 (Kabat)	AISGSGGSTYYADSVKG
SEQ ID NO: 194	HCDR3 (Kabat)	AYKLSWLDL
SEQ ID NO: 107	HCDR1 (Chothia)	GFTFSSY
SEQ ID NO: 108	HCDR2 (Chothia)	SGSGGS
SEQ ID NO: 194	HCDR3(Chot hia)	AYKLSWLDL
SEQ ID NO: 109	HCDR1 (IMGT)	GFTFSSYA
SEQ ID NO: 110	HCDR2 (IMGT)	ISGSGGST
SEQ ID NO: 195	HCDR3 (IMGT)	ARAYKLSWLDL
SEQ ID NO: 196	VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWWSAISGSGGSTYYADS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARAYKLSWLDLWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 197	ADN VH	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGAGGA CTGGTTCAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGT CTTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTTAGCAG CTACGCCATGAGCTGGGTCCGACAGGCTCC TGGCAAAGGCCTTGAATGGGTGTCCGCCATC TCTGGCTCTGGCGGCAGCACATATTACGCCG ACTCTGTGAAGGGCAGATTACCATCAGCCG GGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCC GTGTACTATTGTGCCAGAGCCTACAAGCTGA GCTGGCTGGATCTTTGGGGCCAGGGCACAC TGGTCACAGTGTCATCT
SEQ ID NO: 198	Cadena Pesada	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWWSAISGSGGSTYYADS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYY CARAYKLSWLDLWGQGLTVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPCPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K
SEQ ID NO: 199	ADN Cadena Pesada	GAAGTTCAGCTGCTGGAATCTGGCGGAGGA CTGGTTCAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGT CTTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTTAGCAG CTACGCCATGAGCTGGGTCCGACAGGCTCC TGGCAAAGGCCTTGAATGGGTGTCCGCCATC

		TCTGGCTCTGGCGGCAGCACATATTACGCCG ACTCTGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCG GGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAG ATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCC GTGTACTATTGTGCCAGAGCCTACAAGCTGA GCTGGCTGGATCTTTGGGGCCAGGGGCACAC TGGTCACAGTGTCTGCTAGCACCAAGGG CCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCCAGCAG CAAGTCTACTTCCGGCGGAAGTGTGCCCTG GGTTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCTGTC CCGTGACAGTGTCTGGAAGTCTGGGGCTCT GACTTCCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGT GCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGCCTGAG CAGCGTGGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCT GGGAACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAAC CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAG AGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGACAAGACC CACACCTGCCCCCCTGCCAGCTCCAGAA CTGCTGGGAGGGCCTTCCGTGTTCTGTTCC CCCCAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCA GCAGGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGG TGGACGTGTCCACGAGGACCCAGAGGTGA AGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG TGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGG AGCAGTACAACAGCACCTACAGGGTGGTGTCT CGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGGCT GAACGGCAAAGAATACAAGTGCAAAGTCTCC AACAAAGGCCCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGA CAATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGG AGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCAGCC GGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGTCCC TGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCTG TGATATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGG CCAGCCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCC CCCAGTGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTT CCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGTCC AGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGC AGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCAC TACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGAGCCCC GGCAAG
SEQ ID NO: 116	LCDR1 (Combinada)	RASQSISSYLN
SEQ ID NO: 47	LCDR2 (Combinada)	AASSLQS
SEQ ID NO: 200	LCDR3 (Combinada)	QQVWYAPVT
SEQ ID NO: 116	LCDR1 (Kabat)	RASQSISSYLN
SEQ ID NO: 47	LCDR2 (Kabat)	AASSLQS
SEQ ID NO: 200	LCDR3 (Kabat)	QQVWYAPVT

SEQ ID NO: 49	LCDR1 (Chothia)	SQSISSY
SEQ ID NO: 50	LCDR2 (Chothia)	AAS
SEQ ID NO: 201	LCDR3 (Chothia)	VWYAPV
SEQ ID NO: 52	LCDR1 (IMGT)	QSISSY
SEQ ID NO: 50	LCDR2 (IMGT)	AAS
SEQ ID NO: 200	LCDR3 (IMGT)	QQVWYAPVT
SEQ ID NO: 202	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYL NWWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQVWYAPVT FGQGTKVEIK
SEQ ID NO: 203	ADN VL	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGC CTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCA GCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCG GCAAGGCCCCCTAACTGCTGATCTATGCCGC CAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAAGCAG ATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTC ACCCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAGG ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAAGTTTG GTACGCCCCCTGTGACCTTTGGCCAGGGCAC CAAGGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 204	Cadena Ligera	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYL NWWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQVWYAPVT FGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 205	ADN Cadena Ligera	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGC CTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCAGCA GCTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCG GCAAGGCCCCCTAACTGCTGATCTATGCCGC CAGCTCTCTGCAGTCTGGCGTGCCAAGCAG ATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTC ACCCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAGG ACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAAGTTTG GTACGCCCCCTGTGACCTTTGGCCAGGGCAC CAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGC TCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGAC GAGCAGCTGAAGAGTGGCACCGCCAGCGTG GTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCCGGG AGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACG CCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCG TCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT

		ACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCA AGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACG CCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCG AGTGC
Y010900 E152C_S375C		
SEQ ID NO: 206	HCDR1 (Combinada)	GFTFSNAWMS
SEQ ID NO: 207	HCDR2 (Combinada)	RIKSKTDAGTTDYAAPVKG
SEQ ID NO: 208	HCDR3 (Combinada)	TIYPSAPSSSLDY
SEQ ID NO: 209	HCDR1 (Kabat)	NAWMS
SEQ ID NO: 207	HCDR2 (Kabat)	RIKSKTDAGTTDYAAPVKG
SEQ ID NO: 208	HCDR3 (Kabat)	TIYPSAPSSSLDY
SEQ ID NO: 210	HCDR1 (Chothia)	GFTFSNA
SEQ ID NO: 211	HCDR2 (Chothia)	KSKTDAGT
SEQ ID NO: 208	HCDR3(Chot hia)	TIYPSAPSSSLDY
SEQ ID NO: 212	HCDR1 (IMGT)	GFTFSNAW
SEQ ID NO: 213	HCDR2 (IMGT)	IKSKTDAGTT
SEQ ID NO: 214	HCDR3 (IMGT)	ARTIYPSAPSSSLDY
SEQ ID NO: 215	VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNA WMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDAGTTDYA APVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCARTIYPSAPSSSLDYWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 216	ADN VH	GAAGTGCAGCTGGTGGAACTCTGGCGGCGGA CTTGTGAAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGA GCTGTGCCGCTTCCGGCTTCACCTTCAGCAA TGCCTGGATGAGCTGGGTCCGACAGGCCCC TGGAAGAGGCCTTGAGTGGGTCCGACGGAT CAAGAGCAAGACCGATGCCGGCACCACCGA TTATGCTGCCCCCTGTGAAGGGCAGATTACC ATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAACAGCCTGAAAACCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAACAAT CTACCCAGCGCTCCTAGCAGCAGCCTGGA TTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTCACCGT GTCATCT
SEQ ID NO: 217	Cadena Pesada	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNA WMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDAGTTDYA APVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCARTIYPSAPSSSLDYWGQGLTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPCP

		VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
SEQ ID NO: 218	ADN Cadena Pesada	GAAGTGCAGCTGGTGGGAATCTGGCGGCGGA CTTGTGAAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGA GCTGTGCCGCTTCCGGCTTCACCTTCAGCAA TGCCTGGATGAGCTGGGTCCGACAGGCCCC TGGAAGAGGCCTTGAGTGGGTCCGACGGAT CAAGAGCAAGACCGATGCCGGCACCACCGA TTATGCTGCCCCTGTGAAGGGCAGATTCAAC ATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAACAGCCTGAAAACCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAACAAT CTACCCAGCGCTCCTAGCAGCAGCCTGGA TTATTGGGGCCAGGGCACACTGGTCACCGT GTCATCTGCTAGCACCAAGGGCCCAAGTGTG TTTCCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTT CCGGCGGAAGTCTGCTGCCCTGGGTGCTGG TGAAGGACTACTTCCCCTGTCCCGTGACAGT GTCCTGGAAGTCTGGGGCTCTGACTTCCGG CGTGACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAG CAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGT GACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCA GACCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCC AGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAG CCAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGC CCCCCCTGCCAGCTCCAGAACTGCTGGGA GGGCCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCCCCAAGC CCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCC CCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGT CCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACT GGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACG CCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACA ACAGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGA CCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCA AGAATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGC CCTGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAGC AAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAG GTGTACACCCTGCCCCCAGCCGGGAGGAG ATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTC TGGTGAAGGGCTTCTACCCCTGTGATATCGC CGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGA GAACAATAACAAGACCACCCCCCAGTGCTG GACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCA

		AGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGC AGGGCAACGTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGC ACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 153	LCDR1 (Combinada)	RASQGISNYLA
SEQ ID NO: 154	LCDR2 (Combinada)	AASTLQS
SEQ ID NO: 219	LCDR3 (Combinada)	QQLIFFPLT
SEQ ID NO: 153	LCDR1 (Kabat)	RASQGISNYLA
SEQ ID NO: 154	LCDR2 (Kabat)	AASTLQS
SEQ ID NO: 219	LCDR3 (Kabat)	QQLIFFPLT
SEQ ID NO: 156	LCDR1 (Chothia)	SQGISNY
SEQ ID NO: 50	LCDR2 (Chothia)	AAS
SEQ ID NO: 220	LCDR3 (Chothia)	LIFFPL
SEQ ID NO: 158	LCDR1 (IMGT)	QGISNY
SEQ ID NO: 50	LCDR2 (IMGT)	AAS
SEQ ID NO: 219	LCDR3 (IMGT)	QQLIFFPLT
SEQ ID NO: 221	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISNYL AWYQQKPGKVPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGS GSGTDFLTISLQPEDVATYYCQQLIFFPLTFG QGTKVEIK
SEQ ID NO: 222	ADN VL	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGC CTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCAGCCAGGGCATCAGC AACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCCG GCAAGGTGCCCAAGCTGCTGATCTACGCTG CCAGCACACTGCAGAGCGGAGTGCCTAGCA GATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGATT CACCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAG GACGTGGCCACCTACTATTGCCAGCAGCTGA TCTTCTTCCCTCTGACCTTTGGCCAGGGCAC CAAGGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 223	Cadena Ligera	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISNYL AWYQQKPGKVPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGS GSGTDFLTISLQPEDVATYYCQQLIFFPLTFG QGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 224	ADN Cadena Ligera	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGC CTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACC

		ATCACCTGTAGAGCCAGCCAGGGCATCAGC AACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCCG GCAAGGTGCCCAAGCTGCTGATCTACGCTG CCAGCACACTGCAGAGCGGAGTGCCTAGCA GATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGATTT CACCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAG GACGTGGCCACCTACTATTGCCAGCAGCTGA TCTTCTTCCCTCTGACCTTTGGCCAGGGCAC CAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGC TCCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGAC GAGCAGCTGAAGAGTGGCACCGCCAGCGTG GTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCCGGG AGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACG CCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCG TCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCT ACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCA AGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACG CCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCA GCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCG AGTGC
Y010903 E152C_S375C		
SEQ ID NO: 206	HCDR1 (Combinada)	GFTFSNAWMS
SEQ ID NO: 207	HCDR2 (Combinada)	RIKSKTDAGTTDYAAPVKG
SEQ ID NO: 225	HCDR3 (Combinada)	ASHRLHSLFDV
SEQ ID NO: 209	HCDR1 (Kabat)	NAWMS
SEQ ID NO: 207	HCDR2 (Kabat)	RIKSKTDAGTTDYAAPVKG
SEQ ID NO: 225	HCDR3 (Kabat)	ASHRLHSLFDV
SEQ ID NO: 210	HCDR1 (Chothia)	GFTFSNA
SEQ ID NO: 211	HCDR2 (Chothia)	KSKTDAGT
SEQ ID NO: 225	HCDR3(Chot hia)	ASHRLHSLFDV
SEQ ID NO: 212	HCDR1 (IMGT)	GFTFSNAW
SEQ ID NO: 213	HCDR2 (IMGT)	IKSKTDAGTT
SEQ ID NO: 226	HCDR3 (IMGT)	ARASHRLHSLFDV
SEQ ID NO: 227	VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNA WMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDAGTTDYA APVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCARASHRLHSLFDVWGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 228	ADN VH	GAAGTGCAGCTGGTGAATCTGGCGGCGGA CTTGTGAAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGA GCTGTGCCGCTTCCGGCTTCACCTTCAGCAA

		TGCCTGGATGAGCTGGGTCCGACAGGCCCC TGGAAAAGGCCTTGAGTGGGTCCGACGGAT CAAGAGCAAGACCGATGCCGGCACCACCGA TTATGCTGCCCCTGTGAAGGGCAGATTACC ATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAACAGCCTGAAAACCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAGAGCCTC TCACAGACTGCACAGCCTGTTTGACGTGTGG GGCCAGGGAACACTGGTCACCGTTAGTTCT
SEQ ID NO: 229	Cadena Pesada	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNA WMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDAGTTDYA APVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCARASHRLHSLFDVWGQGLTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPCPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
SEQ ID NO: 230	ADN Cadena Pesada	GAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGGA CTTGTGAAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGA GCTGTGCCGCTTCCGGCTTCACCTTCAGCAA TGCCTGGATGAGCTGGGTCCGACAGGCCCC TGGAAAAGGCCTTGAGTGGGTCCGACGGAT CAAGAGCAAGACCGATGCCGGCACCACCGA TTATGCTGCCCCTGTGAAGGGCAGATTACC ATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAACAGCCTGAAAACCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGTGCCAGAGCCTC TCACAGACTGCACAGCCTGTTTGACGTGTGG GGCCAGGGAACACTGGTCACCGTTAGTTCTG CTAGCACCAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCT GGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGG AACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGA CTACTTCCCCTGTCCCGTGACAGTGTCTGG AACTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGCACA CCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCC TGACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGC CCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGC TGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGC CCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCTTCC GTGTTCTGTTCCCCCCTAAGCCCAAGGACA CCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGA CCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGG

		ACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGA CGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAA GCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTA CAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA CCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAA GTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGC CCCAATCGAAAAGACAATCAGCAAGGCCAAG GGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACC CTGCCCCCAGCCGGGAGGAGATGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGG GCTTCTACCCCTGTGATATCGCCGTGGAGTG GGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAATA CAAGACCACCCCCCAGTGCTGGACAGCGA CGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACC GTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAAC GTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCC CTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGA GCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 136	LCDR1 (Combinada)	RASQSISSWLA
SEQ ID NO: 137	LCDR2 (Combinada)	DASSLES
SEQ ID NO: 231	LCDR3 (Combinada)	QQGLFYPHT
SEQ ID NO: 136	LCDR1 (Kabat)	RASQSISSWLA
SEQ ID NO: 137	LCDR2 (Kabat)	DASSLES
SEQ ID NO: 231	LCDR3 (Kabat)	QQGLFYPHT
SEQ ID NO: 139	LCDR1 (Chothia)	SQSISSW
SEQ ID NO: 140	LCDR2 (Chothia)	DAS
SEQ ID NO: 232	LCDR3 (Chothia)	GLFYPH
SEQ ID NO: 142	LCDR1 (IMGT)	QSISSW
SEQ ID NO: 140	LCDR2 (IMGT)	DAS
SEQ ID NO: 231	LCDR3 (IMGT)	QQGLFYPHT
SEQ ID NO: 233	VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITICRASQSISSWL AWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFGS GSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQGLFYPHTF GQGTKVEIK
SEQ ID NO: 234	ADN VL	GACATCCAGATGACACAGAGCCCCAGCACA CTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCTCCT CTTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTG GCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACGATGC CAGCAGCCTGGAAAGCGGCGTGCCAAGCAG

		ATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGAGTTC ACCCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAGG ACTTCGCCACCTACTATTGTCAGCAGGGCCT GTTCTACCCTCACACCTTTGGCCAGGGCACC AAGGTGGAAATCAAG
SEQ ID NO: 235	Cadena Ligera	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWL AWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGS GSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQGLFYPHTF GQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 236	ADN Cadena Ligera	GACATCCAGATGACACAGAGCCCCAGCACA CTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCAGCCAGAGCATCTCCT CTTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTG GCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACGATGC CAGCAGCCTGGAAAGCGGCGTGCCAAGCAG ATTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGAGTTC ACCCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAGG ACTTCGCCACCTACTATTGTCAGCAGGGCCT GTTCTACCCTCACACCTTTGGCCAGGGCACC AAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCGCT CCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGACG AGCAGCTGAAGAGTGGCACCGCCAGCGTGG TGTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGA GGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGC CCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGT CACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTA CAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAA GGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGC CTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAG CCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGA GTGC
Y010906 E152C_S375C		
SEQ ID NO: 206	HCDR1 (Combinada)	GFTFSNAWMS
SEQ ID NO: 207	HCDR2 (Combinada)	RIKSKTDAGTTDYAAPVKG
SEQ ID NO: 237	HCDR3 (Combinada)	DEYPWGWFDV
SEQ ID NO: 209	HCDR1 (Kabat)	NAWMS
SEQ ID NO: 207	HCDR2 (Kabat)	RIKSKTDAGTTDYAAPVKG
SEQ ID NO: 237	HCDR3 (Kabat)	DEYPWGWFDV
SEQ ID NO: 210	HCDR1 (Chothia)	GFTFSNA
SEQ ID NO: 211	HCDR2 (Chothia)	KSKTDAGT

SEQ ID NO: 237	HCDR3(Chot hia)	DEYPWGWFDV
SEQ ID NO: 212	HCDR1 (IMGT)	GFTFSNAW
SEQ ID NO: 213	HCDR2 (IMGT)	IKSKTDAGTT
SEQ ID NO: 238	HCDR3 (IMGT)	ARDEYPWGWFDV
SEQ ID NO: 239	VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNA WMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDAGTTDYA APVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCARDEYPWGWFDVWGQGLVTVSS
SEQ ID NO: 240	ADN VH	GAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGGA CTTGTGAAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGA GCTGTGCCGCTTCCGGCTTCACCTTCAGCAA TGCCTGGATGAGCTGGGTCCGACAGGCCCC TGAAAAAGGCCTTGAGTGGGTCCGACGGAT CAAGAGCAAGACCGATGCCGGCACCACCGA TTATGCTGCCCCTGTGAAGGGCAGATTACCC ATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAACAGCCTGAAAACCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGATGA GTACCCCTGGGGATGGTTCGATGTGTGGGG ACAGGGAACCCTGGTCACCGTTAGTTCT
SEQ ID NO: 241	Cadena Pesada	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNA WMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDAGTTDYA APVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCARDEYPWGWFDVWGQGLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPCPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPK SCDKHTCPCPPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
SEQ ID NO: 242	ADN Cadena Pesada	GAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGGA CTTGTGAAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGA GCTGTGCCGCTTCCGGCTTCACCTTCAGCAA TGCCTGGATGAGCTGGGTCCGACAGGCCCC TGAAAAAGGCCTTGAGTGGGTCCGACGGAT CAAGAGCAAGACCGATGCCGGCACCACCGA TTATGCTGCCCCTGTGAAGGGCAGATTACCC ATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAACAGCCTGAAAACCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGATGA GTACCCCTGGGGATGGTTCGATGTGTGGGG ACAGGGAACCCTGGTCACCGTTAGTTCTGCT

		AGCACCAAGGGCCCAAGTGTGTTTCCCCTG GCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCCGGCGGA ACTGCTGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGAC TACTTCCCCTGTCCCGTGACAGTGTCTGGA ACTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTGACACA CCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCC TGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGACAGTGC CCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGACCTATAT CTGCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACC AAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGC TGCGACAAGACCCACACCTGCCCCCCTGC CCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCTTCC GTGTTCTGTTCCCCCCTAAGCCCAAGGACA CCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGA CCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGG ACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGA CGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAA GCCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTA CAGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA CCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAA GTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCCTGCCAGC CCCAATCGAAAAGACAATCAGCAAGGCCAAG GGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACC CTGCCCCCAGCCGGGAGGAGATGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGG GCTTCTACCCCTGTGATATCGCCGTGGAGTG GGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAATA CAAGACCACCCCCCAGTGCTGGACAGCGA CGGCAGCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACC GTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCAGGGCAAC GTGTTTCAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCC CTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGA GCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 243	LCDR1 (Combinada)	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 47	LCDR2 (Combinada)	AASSLQS
SEQ ID NO: 244	LCDR3 (Combinada)	QQYIFYPLT
SEQ ID NO: 243	LCDR1 (Kabat)	RASQGISSWLA
SEQ ID NO: 47	LCDR2 (Kabat)	AASSLQS
SEQ ID NO: 244	LCDR3 (Kabat)	QQYIFYPLT
SEQ ID NO: 245	LCDR1 (Chothia)	SQGISSW
SEQ ID NO: 50	LCDR2 (Chothia)	AAS
SEQ ID NO: 246	LCDR3 (Chothia)	YIFYPL

SEQ ID NO: 247	LCDR1 (IMGT)	QGISSW
SEQ ID NO: 50	LCDR2 (IMGT)	AAS
SEQ ID NO: 244	LCDR3 (IMGT)	QQYIFYPLT
SEQ ID NO: 248	VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWL AWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQYIFYPLTF GQGTKVEIK
SEQ ID NO: 249	ADN VL	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCTCCG TGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACCA TCACCTGTAGAGCCAGCCAGGGCATCTCTTC TTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGG CAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTATGCCGCT TCCAGTCTGCAGAGCGGCGTGCCAAGCAGA TTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCA CCCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAGGA CTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACATC TTCTACCCTCTGACCTTCGGCCAGGGCACCA AGGTGGAATCAAG
SEQ ID NO: 250	Cadena Ligera	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGISSWL AWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGS GSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQYIFYPLTF GQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 251	ADN Cadena Ligera	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCTCCG TGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACCA TCACCTGTAGAGCCAGCCAGGGCATCTCTTC TTGGCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGG CAAGGCCCCTAAGCTGCTGATCTATGCCGCT TCCAGTCTGCAGAGCGGCGTGCCAAGCAGA TTTTCTGGCAGCGGCTCTGGCACCGACTTCA CCCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAGGA CTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACATC TTCTACCCTCTGACCTTCGGCCAGGGCACCA AGGTGGAATCAAGCGTACGGTGGCCGCTC CCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGACGA GCAGCTGAAGAGTGGCACCGCCAGCGTGGT GTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGGGAG GCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCC CTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTC ACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACCTAC AGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGCAAG GCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTACGCCT GCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCC CCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGCGAGT GC
Y010910 E152C_S375C		

SEQ ID NO: 206	HCDR1 (Combinada)	GFTFSNAWMS
SEQ ID NO: 207	HCDR2 (Combinada)	RIKSKTDAGTTDYAAPVKG
SEQ ID NO: 252	HCDR3 (Combinada)	VASPSAPGGFDY
SEQ ID NO: 209	HCDR1 (Kabat)	NAWMS
SEQ ID NO: 207	HCDR2 (Kabat)	RIKSKTDAGTTDYAAPVKG
SEQ ID NO: 252	HCDR3 (Kabat)	VASPSAPGGFDY
SEQ ID NO: 210	HCDR1 (Chothia)	GFTFSNA
SEQ ID NO: 211	HCDR2 (Chothia)	KSKTDAGT
SEQ ID NO: 252	HCDR3(Chot hia)	VASPSAPGGFDY
SEQ ID NO: 212	HCDR1 (IMGT)	GFTFSNAW
SEQ ID NO: 213	HCDR2 (IMGT)	IKSKTDAGTT
SEQ ID NO: 253	HCDR3 (IMGT)	ARVASPSAPGGFDY
SEQ ID NO: 254	VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNA WMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDAGTTDYA APVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCARVASPSAPGGFDYWGGQGLTVTVSS
SEQ ID NO: 255	ADN VH	GAAGTGCAGCTGGTGAATCTGGCGGCGGA CTTGTGAAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGA GCTGTGCCGCTTCCGGCTTCACCTTCAGCAA TGCCTGGATGAGCTGGGTCCGACAGGCCCC TGGAAGAGGCCTTGAGTGGGTCCGACGGAT CAAGAGCAAGACCGATGCCGGCACCACCGA TTATGCTGCCCCCTGTGAAGGGCAGATTCACC ATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAACAGCCTGAAAACCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGTGG CTTCTCCTTCTGCTCCCGGCGGATTTCGATTA TTGGGGCCAGGGAACACTGGTCACCGTGTC TAGT
SEQ ID NO: 256	Cadena Pesada	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNA WMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTDAGTTDYA APVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVY YCARVASPSAPGGFDYWGGQGLTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPCP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP

		QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSSFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
SEQ ID NO: 257	ADN Cadena Pesada	GAAGTGCAGCTGGTGGGAATCTGGCGGCGGA CTTGTGAAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGA GCTGTGCCGCTTCCGGCTTCACCTTCAGCAA TGCCTGGATGAGCTGGGTCCGACAGGCCCC TGAAAAAGGCCTTGAGTGGGTCCGACGGAT CAAGAGCAAGACCGATGCCGGCACCACCGA TTATGCTGCCCCCTGTGAAGGGCAGATTACCC ATCAGCAGGGACGACAGCAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAACAGCCTGAAAACCGAGG ACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGTGG CTTCTCCTTCTGCTCCCGGCGGATTTCGATTA TTGGGGCCAGGGAACACTGGTCACCGTGTCT TAGTGCTAGCACCAAGGGCCCAAGTGTGTTT CCCCTGGCCCCCAGCAGCAAGTCTACTTCC GGCGGAACTGCTGCCCTGGGTGCTGCTGGTG AAGGACTACTTCCCCTGTCCCGTGACAGTGT CCTGGAACCTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCG TGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCA GCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTGGTGA CAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGAACCCAGA CCTATATCTGCAACGTGAACCACAAGCCCAG CAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCC CAAGAGCTGCGACAAGACCCACACCTGCCC CCCCTGCCCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGG GCCTTCCGTGTTCTGTTCCCCCCCCAAGCCC AAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCC GAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCC CACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGG TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCC AAGACCAAGCCCAGAGAGGAGCAGTACAAC AGCACCTACAGGGTGGTGTCCGTGCTGACC GTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAA GAATACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCC TGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCAGCAA GGCCAAGGGCCAGCCACGGGAGCCCCAGG TGTACACCCTGCCCCCAGCCGGGAGGAGA TGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCT GGTGAAGGGCTTCTACCCCTGTGATATCGCC GTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAG AACAACTACAAGACCACCCCCCAGTGCTGG ACAGCGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAA GCTGACCGTGGACAAGTCCAGGTGGCAGCA GGGCAACGTGTTTCACTGTCAGCGTGATGCA CGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAA GTCCCTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG
SEQ ID NO: 153	LCDR1 (Combinada)	RASQGISNYLA

SEQ ID NO: 154	LCDR2 (Combinada)	AASTLQS
SEQ ID NO: 258	LCDR3 (Combinada)	QQSLFAPFT
SEQ ID NO: 153	LCDR1 (Kabat)	RASQGISNYLA
SEQ ID NO: 154	LCDR2 (Kabat)	AASTLQS
SEQ ID NO: 258	LCDR3 (Kabat)	QQSLFAPFT
SEQ ID NO: 156	LCDR1 (Chothia)	SQGISNY
SEQ ID NO: 50	LCDR2 (Chothia)	AAS
SEQ ID NO: 259	LCDR3 (Chothia)	SLFAPF
SEQ ID NO: 158	LCDR1 (IMGT)	QGISNY
SEQ ID NO: 50	LCDR2 (IMGT)	AAS
SEQ ID NO: 258	LCDR3 (IMGT)	QQSLFAPFT
SEQ ID NO: 260	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISNYL AWYQQKPGKVPKLLIYAASLTQSGVPSRFGS GSGTDFLTITSLQPEDVATYYCQQSLFAPFTF GQGTKVEIK
SEQ ID NO: 261	ADN VL	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGC CTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCAGCCAGGGCATCAGC AACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCCG GCAAGGTGCCCAAGCTGCTGATCTACGCTG CCAGCACACTGCAGAGCGGAGTGCCTAGCA GATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGATTT CACCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAG GACGTGGCCACCTACTACTGTGACGAGAGC CTGTTTCCCCCTTTACCTTTGGCCAGGGCA CCAAGGTGGAATCAAG
SEQ ID NO: 262	Cadena Ligera	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISNYL AWYQQKPGKVPKLLIYAASLTQSGVPSRFGS GSGTDFLTITSLQPEDVATYYCQQSLFAPFTF GQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNFPYAPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO: 263	ADN Cadena Ligera	GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGC CTGTCTGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACC ATCACCTGTAGAGCCAGCCAGGGCATCAGC AACTACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCCG GCAAGGTGCCCAAGCTGCTGATCTACGCTG CCAGCACACTGCAGAGCGGAGTGCCTAGCA GATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGATTT CACCTGACCATATCTAGCCTGCAGCCAGAG

		GACGTGGCCACCTACTACTGTCAGCAGAGC CTGTTGCCCCCTTTACCTTTGGCCAGGGCA CCAAGGTGGAAATCAAGCGTACGGTGGCCG CTCCAGCGTGTTTCATCTTCCCCCCCAGCGA CGAGCAGCTGAAGAGTGGCACCGCCAGCGT GGTGTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCCG GAGGCCAAGGTGCAGTGGGAAGGTGGACAAC GCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAGGAGAGC GTCACCGAGCAGGACAGCAAGGACTCCACC TACAGCCTGAGCAGCACCTGACCCTGAGC AAGGCCGACTACGAGAAGCATAAGGTGTAC GCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCC AGCCCCGTGACCAAGAGCTTCAACAGGGGC GAGTGC
--	--	--

[00278] Otros anticuerpos de la invención incluyen aquellos donde los aminoácidos o ácidos nucleicos que codifican los aminoácidos han sido mutados, pero tienen al menos 60, 70, 80, 90 o 95 por ciento de identidad con las secuencias descritas en la Tabla 2. En algunas formas de realización, 1, 2, 3, 4 o 5 los aminoácidos han sido mutados en las regiones variables en comparación con las regiones variables representadas en la secuencia descrita en la Tabla 2, mientras que conservan sustancialmente la misma actividad terapéutica que los anticuerpos enumerados en la Tabla 2.

[00279] Dado que cada uno de estos anticuerpos puede unirse a PMEL17, las VL, VH, secuencias de cadena ligera de longitud completa y de cadena pesada de longitud completa (secuencias de aminoácidos y las secuencias de nucleótidos que codifican las secuencias de aminoácidos) se pueden "mezclar y combinar" para crear otros anticuerpos de unión a PMEL17 de la invención. Tales anticuerpos de unión a PMEL17 "mezclados y combinados" se pueden testear utilizando los ensayos de unión conocidos en la técnica (por ejemplo, ELISA y otros ensayos descritos en la sección Ejemplos). Cuando estas cadenas se mezclan y combinan, una secuencia VH de un emparejamiento VH/VL particular debe reemplazarse por una secuencia VH estructuralmente similar. Del mismo modo, una secuencia de cadena pesada de longitud completa de un emparejamiento particular de cadena pesada/cadena ligera de longitud completa debe reemplazarse por una secuencia de cadena pesada de longitud completa estructuralmente similar. Del mismo modo, una secuencia VL de un emparejamiento VH/VL particular debe reemplazarse por una secuencia VL estructuralmente similar. Del mismo modo, una secuencia de cadena ligera de longitud completa de un emparejamiento particular de cadena pesada/cadena ligera de longitud completa debe reemplazarse por una secuencia de cadena ligera de longitud completa estructuralmente similar. Por consiguiente, en un aspecto,

la invención proporciona un anticuerpo monoclonal aislado o una región de unión a antígeno del mismo que tiene: una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 10, 42, 64, 88, 112, 132, 149, 165, 184, 196, 215, 227, 239 o 254; y una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 21, 25, 29, 53, 75, 99, 119, 143, 159, 171, 190, 202, 221, 233, 248 o 260; en donde el anticuerpo se une específicamente a PMEL17.

[00280] En otro aspecto, la invención provee (i) un anticuerpo monoclonal aislado que tiene: una cadena pesada de longitud completa que comprende una secuencia de aminoácidos que ha sido optimizada para expresarse en la célula de un sistema de expresión de mamífero seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 12, 44, 66, 90, 114, 134, 151, 167, 186, 198, 217, 229, 241 o 256; y una cadena ligera de longitud completa que comprende una secuencia de aminoácidos que ha sido optimizada para expresarse en la célula de un mamífero seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 23, 27, 31, 55, 77, 101, 121, 145, 161, 173, 192, 204, 223, 235, 250 o 262; o (ii) una proteína funcional que comprende una porción de unión a antígeno del mismo.

[00281] En otro aspecto, la presente invención provee anticuerpos de unión a PMEL-17 que comprenden las CDR1s, CDR2s y CDR3s de cadena pesada y cadena ligera según lo descrito en la Tabla 2, o combinaciones de las mismas. Las secuencias de aminoácidos de las CDR1s de VH de los anticuerpos se ilustran, por ejemplo, en las SEQ ID NOs: 1, 4, 5, 7, 33, 36, 37, 39, 57, 60, 79, 82, 83, 85, 103, 106, 107, 109, 123, 126, 127, 129, 175, 178, 179, 181, 206, 209, 210, y 212. Las secuencias de aminoácidos de las CDR2s de VH de los anticuerpos se ilustran, por ejemplo, en las SEQ ID NOs: 2, 6, 8, 34, 38, 40, 58, 61, 62, 80, 84, 86, 104, 108, 110, 124, 128, 130, 176, 180, 182, 207, 211, y 213. Las secuencias de aminoácidos de las CDR3s de VH de los anticuerpos se ilustran, por ejemplo, en las SEQ ID NOs: 3, 9, 35, 41, 59, 63, 81, 87, 105, 111, 125, 131, 147, 148, 163, 164, 177, 183, 194, 195, 208, 214, 225, 226, 237, 238, 252, y 253. Las secuencias de aminoácidos de las CDR1s de VL de los anticuerpos se ilustran, por ejemplo, en las SEQ ID NOs: 14, 17, 20, 46, 49, 52, 68, 71, 74, 92, 95, 98, 116, 136, 139, 142, 153, 156, 158, 243, 245, y 247. Las secuencias de aminoácidos de las CDR2s de VL de los anticuerpos se ilustran, por ejemplo, en la SEQ ID Nos: 15, 18, 47, 50, 69, 72, 93, 96, 137, 140, y 154. Las secuencias de aminoácidos de las CDR3s de VL de los anticuerpos se ilustran, por ejemplo, en las SEQ ID NOs: 16, 19, 48, 51, 70, 73, 94, 97, 117, 118, 138, 141, 155, 157, 169, 170188, 189, 200, 201, 219, 220, 231, 232, 244, 246, 258, y 259.

[00282] Dado que cada uno de estos anticuerpos puede unirse a PMEL17 y que la especificidad de unión al antígeno es proporcionada principalmente por las regiones CDR1, 2 y 3, las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de VH y las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de VL pueden “mezclarse y combinarse” (*es decir*, las CDRs de diferentes anticuerpos se pueden mezclar y combinar. Tales anticuerpos de unión a PMEL-17 “mezclados y combinados” puede probarse usando los ensayos de unión conocidos en la técnica y los descritos en los Ejemplos (*por ejemplo*, ELISAs). Cuando las secuencias de CDR de VH se mezclan y combinan, la secuencia de la CDR1, CDR2 y/o CDR3 de una secuencia VH particular debe reemplazarse con una secuencia o secuencias CDR estructuralmente similares. Del mismo modo, cuando las secuencias CDR de VL se mezclan y combinan, la secuencia de la CDR1, CDR2 y/o CDR3 de una secuencia VL en particular debe reemplazarse con una secuencia o secuencias de CDR estructuralmente similares. Será evidente para el experto en la técnica que se pueden crear nuevas secuencias VH y VL sustituyendo una o más secuencias de la región CDR de VH y/o VL con secuencias estructuralmente similares de las secuencias de CDR indicadas en la presente para los anticuerpos monoclonales de la presente invención.

[00283] En consecuencia, en algunas formas de realización, la presente invención provee un anticuerpo monoclonal aislado o región de unión a antígeno del mismo que comprende una CDR1 de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 1, 4, 5, 7, 33, 36, 37, 39, 57, 60, 79, 82, 83, 85, 103, 106, 107, 109, 123, 126, 127, 129, 175, 178, 179, 181, 206, 209, 210, y 212; una CDR2 de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 2, 6, 8, 34, 38, 40, 58, 61, 62, 80, 84, 86, 104, 108, 110, 124, 128, 130, 176, 180, 182, 207, 211, y 213; una CDR3 de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 3, 9, 35, 41, 59, 63, 81, 87, 105, 111, 125, 131, 147, 148, 163, 164, 177, 183, 194, 195, 208, 214, 225, 226, 237, 238, 252, y 253; una CDR1 de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 14, 17, 20, 46, 49, 52, 68, 71, 74, 92, 95, 98, 116, 136, 139, 142, 153, 156, 158, 243, 245, y 247; una CDR2 de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 15, 18, 47, 50, 69, 72, 93, 96, 137, 140, y 154; y una CDR3 de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NOs: 16, 19, 48, 51, 70, 73, 94, 97, 117, 118, 138, 141, 155, 157, 169, 170, 188, 189, 200, 201, 219, 220, 231, 232, 244, 246, 258, y 259; en donde el anticuerpo se une específicamente a PMEL17.

[00284] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 1, 4, 5 o 7, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 2, 6 u 8; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 3 o 9; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 14, 17 o 20; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 15 o 18; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 16 o 19.

[00285] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 33, 36, 37 o 39, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 34, 38 o 40; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 35 o 41; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 46, 49 o 52; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47 o 50; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 48 o 51.

[00286] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 5, 7, 57 o 60, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 58, 61 o 62; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 59 o 63; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 68, 71 o 74; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 69 o 72; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 70 o 73.

[00287] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 79, 82, 83 u 85, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 80, 84 u 86; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 81 u 87; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 92, 95 o 98; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 93 o 96; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 94 o 97.

[00288] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 103, 106, 107 o 109, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 104, 108 o 110; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 105 o 111; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 49, 52 o 116; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47 o 50; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 117 o 118.

[00289] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 123, 126, 127 o 129, una CDR2 de

cadena pesada de la SEQ ID NO: 124, 128 o 130; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 125 o 131; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 136, 139 o 142; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 137 o 140; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 138 o 141.

[00290] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 123, 126, 127 o 129, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 124, 128 o 130; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 147 o 148; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 153, 156 o 158; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50 o 154; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 155 o 157.

[00291] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 103, 106, 107 o 109, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 104, 108 o 110; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 163 o 164; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 49, 52 o 116; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47 o 50; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 169 o 170.

[00292] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 175, 178, 179 o 181, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 176, 180 o 182; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 177 o 183; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 49, 52 o 116; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47 o 50; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 188 o 189.

[00293] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 103, 106, 107 o 109, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 104, 108 o 110; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 194 o 195; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 49, 52 o 116; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47 o 50; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 200 o 201.

[00294] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17

comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 206, 209, 210 o 212, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 207, 211 o 213; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 208 o 214; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 153, 156 o 158; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50 o 154; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 219 o 220.

[00295] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 206, 209, 210 o 212, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 207, 211 o 213; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 225 o 226; una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 136, 139 o 142; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 137 o 140; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 231 o 232.

[00296] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 206, 209, 210 o 212, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 207, 211 o 213, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 237 o 238; y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 243, 245 o 247, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 47 o 50, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 244 o 246.

[00297] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 206, 209, 210 o 212, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 207, 211 o 213, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 252 o 253; y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 153, 156 o 158, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 50 o 154, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 258 o 259.

[00298] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende las secuencias de CDR seleccionadas entre:

a) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 1, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 2, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 3, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 14, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 15, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 16;

- b) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 4, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 2, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 3, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 14, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 15, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 16;
- c) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 5, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 6, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 3, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 17, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 18, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 19; o
- d) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 7, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 8, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 9, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 20, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 18, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 16.

[00299] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende las secuencias de CDR seleccionadas entre:

- a) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 33, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 34, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 35, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 46, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 48;
- b) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 36, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 34, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 35, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 46, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 48;
- c) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 37, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 38, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 35, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 49, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 51; o
- d) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 39, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 40, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 41, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 52, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 48.

[00300] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende las secuencias de CDR seleccionadas entre:

- a) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 57, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 58, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 59, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 68, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 69, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 70;
- b) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 60, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 58, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 59, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 68, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 69, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 70;
- c) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 5, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 61, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 59, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 71, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 72, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 73; o
- d) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 7, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 62, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 63, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 74, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 72, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 70.

[00301] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende las secuencias de CDR seleccionadas entre:

- a) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 79, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 80, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 81, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 92, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 93, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 94;
- b) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 82, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 80, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 81, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 92, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 93, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 94;
- c) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 83, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 84, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 81, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 95, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 96, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 97; o
- d) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 85, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 86, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 87, una CDR1 de cadena

ligera de la SEQ ID NO: 98, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 96, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 94.

[00302] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende las secuencias de CDR seleccionadas entre:

- a) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 103, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 104, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 105, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 116; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 117;
- b) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 106, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 104, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 105, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 116, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 117;
- c) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 107, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 108, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 105, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 49, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 118; o
- d) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 109, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 110, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 111, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 52 una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 117.

[00303] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende las secuencias de CDR seleccionadas entre:

- a) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 123, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 124, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 125, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 136, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 137, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 138;
- b) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 126, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 124, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 125, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 136, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 137, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 138;
- c) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 127, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 128, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 125, una CDR1 de cadena

ligera de la SEQ ID NO: 139, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 140, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 141; o

d) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 129, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 130, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 131, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 142, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 140, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 138.

[00304] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende las secuencias de CDR seleccionadas entre:

a) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 123, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 124, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 147, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 153, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 154, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 155;

b) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 126, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 124, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 147, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 153, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 154, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 155;

c) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 127, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 128, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 147, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 156, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 157; o

d) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 129, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 130, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 148, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 158, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 155.

[00305] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende las secuencias de CDR seleccionadas entre:

a) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 103, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 104, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 163, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 116, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 169;

b) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 106, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 104, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 163, una CDR1 de cadena

ligera de la SEQ ID NO: 116, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 169;

c) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 107, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 108, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 163, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 49, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 170; o

d) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 109, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 110, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 164, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 52, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 169.

[00306] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende las secuencias de CDR seleccionadas entre:

a) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 175, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 176, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 177, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 116, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 188;

b) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 178, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 176, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 177, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 116, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 188;

c) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 179, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 180, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 177, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 49, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 189; o

d) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 181, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 182; una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 183, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 52, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 188.

[00307] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende las secuencias de CDR seleccionadas entre:

a) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 103, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 104, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 194, una CDR1 de cadena

ligera de la SEQ ID NO: 116, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 200;

b) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 106, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 104, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 194, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 116, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 47, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 200;

c) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 107, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 108, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 194, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 49, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 201; o

d) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 109, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 110, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 195, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 52, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 200.

[00308] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende las secuencias de CDR seleccionadas entre:

a) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 206, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 207, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 208, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 153, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 154, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 219;

b) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 209, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 207, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 208, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 153, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 154, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 219;

c) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 210, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 211, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 208, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 156, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 220; o

d) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 212, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 213, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 214, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 158, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 50, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 219.

[00309] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende las secuencias de CDR seleccionadas entre:

- a) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 206, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 207, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 225, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 136, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 137, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 231;
- b) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 209, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 207, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 225, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 136, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 137, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 231;
- c) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 210, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 211, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 225, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 139, una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 140, y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 232; o
- d) una CDR1 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 212, una CDR2 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 213, una CDR3 de cadena pesada de la SEQ ID NO: 226, una CDR1 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 142; una CDR2 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 140; y una CDR3 de cadena ligera de la SEQ ID NO: 231.

[00310] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende las secuencias de CDR seleccionadas entre:

- a) una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 206, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 207, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 237, y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 243, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 47, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 244;
- b) una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 209, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 207, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 237, y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 243, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 47, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 244;
- c) una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 210, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 211, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 237, y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 245, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 50, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 246; o

d) una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 212, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 213, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 238; y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 247, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 50, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 244.

[00311] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende las secuencias de CDR seleccionadas entre:

a) una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 206, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 207, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 252, y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 153, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 154, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 258;

b) una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 209, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 207, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 252, y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 153, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 154, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 258;

c) una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 210, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 211, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 252, y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 156, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 50, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 259; o

d) una región variable de cadena pesada que comprende una HCDR1 de la SEQ ID NO: 212, una HCDR2 de la SEQ ID NO: 213, y una HCDR3 de la SEQ ID NO: 253; y una región variable de cadena ligera que comprende una LCDR1 de la SEQ ID NO: 158, una LCDR2 de la SEQ ID NO: 50, y una LCDR3 de la SEQ ID NO: 258.

[00312] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21.

[00313] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 25.

[00314] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 29.

[00315] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 42, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 53.

[00316] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 75.

[00317] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 88, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 99.

[00318] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 112, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 119.

[00319] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 132, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 143.

[00320] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de

aminoácidos de la SEQ ID NO: 149, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 159.

[00321] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 165, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 171.

[00322] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 184, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 190.

[00323] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 196, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 202.

[00324] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 215, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 221.

[00325] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 227, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 233.

[00326] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 239, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 248.

[00327] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17

comprende una región variable de cadena pesada (VH) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 254, y una región variable de cadena ligera (VL) que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 260.

[00328] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23.

[00329] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 27.

[00330] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 31.

[00331] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 44, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 55.

[00332] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 77.

[00333] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 90, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 101.

[00334] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 114, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 121.

[00335] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 134, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 145.

[00336] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 151, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 161.

[00337] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 167, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 173.

[00338] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 186, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 192.

[00339] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 198, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 204.

[00340] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID

NO: 217, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 223.

[00341] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 229, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 235.

[00342] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 241, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 250.

[00343] En una forma de realización específica, un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se une específicamente a PMEL17 comprende una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 256, y una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 262.

[00344] En ciertas formas de realización, un anticuerpo que se une específicamente a PMEL17 es un anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmento de unión a antígeno) descrito en la Tabla 2.

1. Identificación de epítomos y anticuerpos que se unen al mismo epítomo

[00345] La presente invención además provee anticuerpos y fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) que se unen específicamente al mismo epítomo que los anticuerpos anti-PMEL17 descritos en la Tabla 2, o que compiten en forma cruzada con los anticuerpos descritos en la Tabla 2. Otros anticuerpos y fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) por lo tanto, pueden identificarse en función de su capacidad de competencia cruzada (*por ejemplo*, para inhibir competitivamente la unión de, de manera estadísticamente significativa) con otros anticuerpos de la invención en ensayos de unión a PMEL17, *por ejemplo*, a través de BIACORE o ensayos conocidos por los expertos en la técnica para medir la unión. La capacidad de un anticuerpo de prueba para inhibir la unión de los anticuerpos y fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) de la presente invención a una PMEL17 (*por ejemplo*, PMEL17 humana) demuestra que el

anticuerpo de prueba puede competir con ese anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) en la unión a PMEL17; dicho anticuerpo puede, de acuerdo con una teoría no limitativa, unirse al mismo o un epítipo relacionado (por ejemplo, estructuralmente similar o espacialmente próximo o superpuesto) en la proteína PMEL17 como el anticuerpo o fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) con el cual compete. En ciertas formas de realización, los anticuerpos que se unen al mismo epítipo en PMEL17 que los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) descritos en la Tabla 2 son anticuerpos monoclonales humanos o humanizados. Tales anticuerpos monoclonales humanos o humanizados pueden prepararse y aislarse de acuerdo con la presente.

2. Alteración adicional del marco de la región Fc

[00346] Los inmunoconjugados de la invención pueden comprender anticuerpos modificados o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que comprenden además modificaciones a los residuos marco dentro de la VH y/o VL, por ejemplo para mejorar las propiedades del anticuerpo. En algunas formas de realización, las modificaciones en el marco se realizan para disminuir la inmunogenicidad del anticuerpo. Por ejemplo, un enfoque es "retro mutar" uno o más residuos marco a la secuencia de línea germinal correspondiente. Más específicamente, un anticuerpo que ha sufrido una mutación somática puede contener residuos marco que difieren de la secuencia de la línea germinal de la que deriva el anticuerpo. Dichos residuos pueden identificarse comparando las secuencias marco del anticuerpo con las secuencias de la línea germinal de las cuales se deriva el anticuerpo. Para devolver las secuencias de la región marco a su configuración de la línea germinal, las mutaciones somáticas se pueden "retro mutar" a la secuencia de la línea germinal mediante, por ejemplo, mutagénesis dirigida al sitio. Dichos anticuerpos "retro mutados" también quedan contemplados por la invención.

[00347] Otro tipo de modificación del marco implica la mutación de uno o más residuos dentro de la región marco, o incluso dentro de una o más regiones CDR, para eliminar los epítopos de células T para reducir así la potencial inmunogenicidad del anticuerpo. Este enfoque también se conoce como "desinmunización" y está descrito con más detalle en la Publicación de Patente Estadounidense Nro. 20030153043 de Carr *et al.*

[00348] Además o como alternativa a las modificaciones realizadas dentro del marco o las regiones CDR, los anticuerpos de la invención pueden diseñarse para incluir modificaciones dentro de la región Fc, típicamente para alterar una o más propiedades funcionales del

anticuerpo, como la vida media en suero, la fijación del complemento, la unión al receptor Fc y/o la citotoxicidad celular dependiente de antígeno (ADCC). Además, un anticuerpo de la invención puede modificarse químicamente (por ejemplo, uno o más restos químicos pueden unirse al anticuerpo) o modificarse para alterar su glucosilación, nuevamente para alterar una o más propiedades funcionales del anticuerpo. Cada una de estas formas de realización será descrita con más detalle a continuación.

[00349] En una forma de realización, la región bisagra de CH1 se modifica de manera tal que el número de residuos de cisteína en la región bisagra se altere, por ejemplo, aumente o disminuya. Este enfoque está descrito con mayor detalle en la Patente Estadounidense Número 5,677,425 de Bodmer *et al.* El número de residuos de cisteína en la región bisagra de CH1 se altera para, por ejemplo, facilitar el ensamblaje de las cadenas ligeras y pesadas o para aumentar o disminuir la estabilidad del anticuerpo.

[00350] En algunas formas de realización, el anticuerpo o fragmento de anticuerpo divulgado en la presente incluye residuos de aminoácidos modificados u obtenidos por ingeniería, por ejemplo, uno o más residuos de cisteína, como sitios para la conjugación con un resto de fármaco (Junutula JR, *et al.*, Nat Biotechnol 2008, 26:925-932). En una forma de realización, la invención provee un anticuerpo o fragmento de anticuerpo modificado que comprende una sustitución de uno o más aminoácidos con cisteína en las posiciones descritas en la presente. Los sitios para la sustitución de cisteína están en las regiones constantes del anticuerpo o fragmento de anticuerpo y, por lo tanto, son aplicables a una variedad de anticuerpos o fragmentos de anticuerpos, y los sitios se seleccionan para proporcionar conjugados estables y homogéneos. Un anticuerpo o fragmento modificado puede tener una, dos o más sustituciones de cisteína, y estas sustituciones pueden usarse en combinación con otros métodos de modificación y conjugación de acuerdo con la presente. Los métodos para insertar cisteína en ubicaciones específicas de un anticuerpo son conocidos en la técnica, véase, *por ejemplo*, Lyons *et al.*, (1990) Protein Eng., 3:703-708, WO 2011/005481, WO2014/124316, WO 2015/138615. En ciertas formas de realización, un anticuerpo modificado comprende una sustitución de uno o más aminoácidos con cisteína en su región constante seleccionada entre las posiciones 117, 119, 121, 124, 139, 152, 153, 155, 157, 164, 169, 171, 174, 189, 191, 195, 197, 205, 207, 246, 258, 269, 274, 286, 288, 290, 292, 293, 320, 322, 326, 333, 334, 335, 337, 344, 355, 360, 375, 382, 390, 392, 398, 400 y 422 de una cadena pesada del anticuerpo, y en donde las posiciones están numeradas de acuerdo con el sistema UE. En algunas formas de realización un anticuerpo o fragmento de anticuerpo modificado comprende una sustitución de uno o más aminoácidos con cisteína en su región constante

seleccionada entre las posiciones 107, 108, 109, 114, 129, 142, 143, 145, 152, 154, 156, 159, 161, 165, 168, 169, 170, 182, 183, 197, 199, y 203 de una cadena ligera del anticuerpo o fragmento de anticuerpo, en donde las posiciones están numeradas de acuerdo con el sistema de la UE, y en donde la cadena ligera es una cadena ligera kappa humana. En ciertas formas de realización un anticuerpo o fragmento de anticuerpo modificado del mismo comprende una combinación de sustitución de dos o más aminoácidos con cisteína en sus regiones constantes en donde las combinaciones comprenden sustituciones en las posiciones 375 de una cadena pesada de anticuerpo, la posición 152 de una cadena pesada de anticuerpo, la posición 360 de una cadena pesada de anticuerpo, o la posición 107 de una cadena ligera de anticuerpo y en donde las posiciones están numeradas de acuerdo con el sistema de la UE. En ciertas formas de realización un anticuerpo o fragmento de anticuerpo modificado del mismo comprende una sustitución de un aminoácido con cisteína en sus regiones constantes en donde la sustitución está en la posición 375 de una cadena pesada de anticuerpo, la posición 152 de una cadena pesada de anticuerpo, la posición 360 de una cadena pesada de anticuerpo, la posición 107 de una cadena ligera de anticuerpo, la posición 165 de una cadena ligera de anticuerpo o la posición 159 de una cadena ligera de anticuerpo y en donde las posiciones están numeradas de acuerdo con el sistema de la UE, y en donde la cadena ligera es una cadena kappa. En ciertas formas de realización un anticuerpo o fragmento de anticuerpo modificado del mismo comprende una combinación de sustitución de dos aminoácidos con cisteína en sus regiones constantes en donde las combinaciones comprenden sustituciones en las posiciones 375 de una cadena pesada de anticuerpo y la posición 152 de una cadena pesada de anticuerpo, en donde las posiciones están numeradas de acuerdo con el sistema de la UE. En ciertas formas de realización un anticuerpo o fragmento de anticuerpo modificado del mismo comprende una sustitución de un aminoácido con cisteína en la posición 360 de una cadena pesada de anticuerpo, en donde las posiciones están numeradas de acuerdo con el sistema de la UE. En otras formas de realización específicas un anticuerpo o fragmento de anticuerpo modificado del mismo comprende una sustitución de un aminoácido con cisteína en la posición 107 de una cadena ligera de anticuerpo y en donde las posiciones están numeradas de acuerdo con el sistema de la UE, y en donde la cadena ligera es una cadena kappa.

[00351] En formas de realización adicionales, los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmento de unión a antígeno) de utilidad en los inmunoconjugados de la invención incluyen anticuerpos modificados u obtenidos por ingeniería, como un anticuerpo modificado para introducir uno o más aminoácidos reactivos (distintos de la cisteína), incluyendo Pcl, pirrolisina, etiquetas peptídicas (como las etiquetas S6, A1 y ybbR) y

aminoácidos no naturales, en lugar de al menos un aminoácido de la secuencia nativa, proporcionando así un sitio reactivo en el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno para la conjugación a un resto de fármaco o un resto de enlazador-fármaco con reactividad complementaria. Por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de anticuerpos pueden ser modificados para incorporar Pcl o pirrolisina (W. Ou, *et al.*, (2011) PNAS 108 (26), 10437-10442; WO2014124258) o aminoácidos no naturales (J.Y. Axup, *et al.*, Proc Natl Acad Sci U S A, 109 (2012), pp. 16101–16106; para una revisión, véase C.C. Liu and P.G. Schultz (2010) Annu Rev Biochem 79, 413-444; C.H. Kim, *et al.*, (2013) Curr Opin Chem Biol. 17, 412-419) como sitios para la conjugación a un fármaco. De manera similar, etiquetas peptídicas para los métodos de conjugación enzimática se pueden introducir en un anticuerpo (Strop P., *et al.*, Chem Biol. 2013, 20(2):161-7; Rabuka D., Curr Opin Chem Biol. 2010 Dec;14(6):790-6; Rabuka D, *et al.*, Nat Protoc. 2012, 7(6):1052-67). Otro ejemplo es el uso de 4'- fosfopanteteinil transferasas (PPTase) para la conjugación de análogos de coenzima A (WO2013184514), y (Grünwald *et al.*, (2015) Bioconjugate Chem. 26 (12), 2554-62). Los métodos para conjugar dichos anticuerpos modificados o diseñados genéticamente con cargas útiles o combinaciones de enlazador-carga útil son conocidos en la técnica.

[00352] En otra forma de realización, la región bisagra Fc de un anticuerpo se muta para disminuir la vida media biológica del anticuerpo. Más específicamente, se introducen una o más mutaciones de aminoácidos en la región de interfaz del dominio CH2-CH3 del fragmento bisagra de Fc de modo que el anticuerpo haya deteriorado la unión de la proteína A de estafilococo (SpA) en relación con la unión de SpA al dominio bisagra de Fc nativo. Este enfoque está descrito con mayor detalle en la Patente Estadounidense Número 6,165,745 de Ward *et al.*

[00353] En aún otras formas de realización, la región Fc se altera al reemplazar al menos un residuo de aminoácido por un residuo de aminoácido diferente para alterar las funciones efectoras del anticuerpo. Por ejemplo, uno o más aminoácidos pueden reemplazarse por un residuo de aminoácido diferente de modo que el anticuerpo tenga una afinidad alterada por un ligando efector pero retenga la capacidad de unión al antígeno del anticuerpo parental. El ligando efector al que se altera la afinidad puede ser, por ejemplo, un receptor Fc o el componente C1 del complemento. Este enfoque está descrito en, *por ejemplo*, las Patentes Estadounidenses Nros. 5,624,821 y 5,648,260, ambas de Winter *et al.*

[00354] En otra forma de realización, uno o más aminoácidos seleccionados entre residuos de aminoácidos pueden reemplazarse por un residuo de aminoácido diferente de

modo que el anticuerpo haya alterado la unión a C1q y/o haya reducido o eliminado la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). Este enfoque está descrito en, *por ejemplo*, las Patentes Estadounidenses Nros. 6,194,551 de Idusogie *et al.*

[00355] En otra forma de realización, uno o más residuos de aminoácidos se alteran para alterar así la capacidad del anticuerpo de fijarse al complemento. Este enfoque está descrito en, *por ejemplo*, la Publicación por el PCT WO 94/29351 de Bodmer *et al.* Los residuos de aminoácidos alotípicos incluyen, entre otros, la región constante de una cadena pesada de las subclases IgG1, IgG2 e IgG3, así como la región constante de una cadena ligera del isotipo kappa según lo descrito en Jefferis *et al.*, MAbs. 1:332-338 (2009).

[00356] Los complejos de proteínas de fusión de anticuerpos que contienen tales mutaciones median la citotoxicidad celular reducida o no dependiente de anticuerpos (ADCC) o la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC). En algunas formas de realización, los residuos de aminoácidos L234 y L235 de la región constante de IgG1 se sustituyen por A234 y A235. En algunas formas de realización, el residuo de aminoácido N267 de la región constante de IgG1 se sustituye por A267. En algunas formas de realización, los residuos de aminoácidos D265 y P329 de la región constante de IgG1 son sustituidos por A265 y A329. También se pueden usar otras mutaciones de silenciamiento de anticuerpos Fc.

[00357] En otra forma de realización, uno o más residuos de aminoácidos se modifican para alterar de ese modo la capacidad del anticuerpo de fijarse al complemento. Este enfoque está descrito en, *por ejemplo*, la Publicación por el PCT WO 94/29351 de Bodmer *et al.* En una forma de realización específica, uno o más aminoácidos de un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de la presente invención son reemplazados por uno o más residuos de aminoácidos alotípicos. Los residuos de aminoácidos alotípicos además incluyen, entre otros, la región constante de la cadena pesada de las subclases IgG1, IgG2, e IgG3 así como la región constante de la cadena ligera del isotipo kappa de acuerdo con lo descrito por Jefferis *et al.*, MAbs. 1:332-338 (2009).

[00358] En aún otra forma de realización, se modifica la glicosilación de un anticuerpo. Por ejemplo, se puede preparar un anticuerpo aglicosilado (es decir, el anticuerpo carece de glicosilación). La glucosilación se puede alterar para, por ejemplo, aumentar la afinidad del anticuerpo por el "antígeno". Dichas modificaciones de carbohidratos se pueden alcanzar, por ejemplo, alterando uno o más sitios de glicosilación dentro de la secuencia del anticuerpo. Por ejemplo, se pueden realizar una o más sustituciones de aminoácidos que den como resultado la eliminación de uno o más sitios de glicosilación del marco de la región variable para eliminar de ese modo la glicosilación en ese sitio. Tal aglicosilación puede aumentar la afinidad del

anticuerpo por el antígeno. Este enfoque está descrito en, *por ejemplo*, las Patentes Estadounidenses Nros. 5,714,350 y 6,350,861 de Co *et al.*

[00359] En otra forma de realización, el anticuerpo se modifica para aumentar su vida media biológica. Son posibles varios enfoques. Por ejemplo, se pueden introducir una o más de las siguientes mutaciones: T252L, T254S, T256F, según lo descrito en la Patente Estadounidense Número 6,277,375 concedida a Ward. Alternativamente, para aumentar la vida media biológica, el anticuerpo se puede alterar dentro de la región CH1 o CL para contener un epítipo de unión al receptor de rescate tomado de dos bucles de un dominio CH2 de una región Fc de una IgG, según lo descrito en las Patentes Estadounidenses Nros. 5,869,046 y 6,121,022 concedidas a Presta *et al.*

3. Producción de los anticuerpos anti-PMEL17

[00360] Los anticuerpos anti-PMEL17 y fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) de los mismos pueden producirse por cualquier medio conocido en la técnica, incluyendo, pero sin limitación, expresión recombinante, síntesis química y digestión enzimática de tetrámeros de anticuerpos, mientras que los anticuerpos monoclonales de longitud completa pueden obtenerse mediante, por ejemplo, hibridoma o producción recombinante. La expresión recombinante puede ser de cualquier célula huésped apropiada conocida en la técnica, por ejemplo, células huésped de mamífero, células huésped bacterianas, células huésped de levadura, células huésped de insectos, etc.

[00361] La invención además provee polinucleótidos que codifican los anticuerpos descritos en la presente, por ejemplo, polinucleótidos que codifican regiones o segmentos variables de cadena pesada o ligera que comprenden las regiones determinantes de complementariedad de acuerdo con la presente. En algunas formas de realización, el polinucleótido que codifica las regiones variables de cadena pesada tiene por lo menos 85%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% de identidad de secuencia de ácidos nucleicos con un polinucleótido seleccionado del grupo integrado por las SEQ ID NOs: 11, 43, 65, 89, 113, 133, 150, 166, 185, 197, 216, 228, 240, y 255. En algunas formas de realización, el polinucleótido que codifica las regiones variables de cadena ligera tiene por lo menos 85%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% de identidad de secuencia de ácidos nucleicos con un polinucleótido seleccionado del grupo integrado por las SEQ ID NOs: 22, 26, 30, 54, 76, 100, 120, 144, 160, 172, 191, 203, 222, 234, 249, y 261.

[00362] En algunas formas de realización, el polinucleótido que codifica la cadena pesada tiene por lo menos 85%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% de identidad de secuencia de ácidos nucleicos con un polinucleótido de la SEQ ID NO: 13, 45, 67, 91, 115, 135, 152, 168, 187, 199, 218, 230, 242, y 257. En algunas formas de realización, el polinucleótido que codifica la cadena ligera tiene por lo menos 85%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, o 100% de identidad de secuencia de ácidos nucleicos con un polinucleótido de la SEQ ID NO: 24, 28, 32, 56, 78, 102, 122, 146, 162, 174, 193, 205, 224, 236, 251, y 263.

[00363] Los polinucleótidos de la invención pueden codificar solo la secuencia de región variable de un anticuerpo anti-PMEL17. También pueden codificar tanto una región variable como una región constante del anticuerpo. Algunas de las secuencias de polinucleótidos codifican un polipéptido que comprende las regiones variables tanto de cadena pesada como de cadena ligera de uno de los ejemplos de anticuerpos anti-PMEL17 de ratón. Algunos otros polinucleótidos codifican dos segmentos de polipéptidos que, respectivamente, son sustancialmente idénticos a las regiones variables de cadena pesada y cadena ligera de uno de los anticuerpos de ratón.

[00364] Las secuencias de polinucleótidos pueden producirse por síntesis de ADN de fase sólida de novo o por mutagénesis por PCR de una secuencia existente (por ejemplo, las secuencias según lo descrito en los ejemplos a continuación) que codifica un anticuerpo anti-PMEL17 o su fragmento de unión. La síntesis química directa de ácidos nucleicos se puede alcanzar mediante métodos conocidos en la técnica, como el método de fosfotriéster de Narang *et al.*, Meth. Enzymol. 68:90, 1979; el método de fosfodiéster de Brown *et al.*, Meth. Enzymol. 68:109, 1979; el método de dietilfosforamidita de Beaucage *et al.*, Tetra. Lett., 22:1859, 1981; y el método de soporte sólido de la Patente Estadounidense Número 4,458,066. La introducción de mutaciones a una secuencia de polinucleótidos por PCR se puede realizar según lo descrito en, *por ejemplo*, PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification, H.A. Erlich (Ed.), Freeman Press, NY, NY, 1992; PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Innis *et al.* (Ed.), Academic Press, San Diego, CA, 1990; Mattila *et al.*, Nucleic Acids Res. 19:967, 1991; y Eckert *et al.*, PCR Methods and Applications 1:17, 1991.

[00365] La invención además provee vectores de expresión y células huésped para producir los anticuerpos anti-PMEL17 antes descritos. Se pueden emplear diversos vectores de expresión para expresar los polinucleótidos que codifican las cadenas de anticuerpos anti-PMEL17 o fragmentos de unión. Tanto los vectores de expresión virales como no virales pueden usarse para producir los anticuerpos en una célula huésped de mamífero. Los vectores

y sistemas no virales incluyen plásmidos, vectores episomales, típicamente con un casete de expresión para expresar una proteína o ARN, y cromosomas artificiales humanos (véase, *por ejemplo*, Harrington *et al.*, Nat Genet 15:345, 1997). Por ejemplo, los vectores no virales útiles para la expresión de los polinucleótidos y polipéptidos anti-PMEL17 en células de mamíferos (*por ejemplo*, humanas) incluyen los vectores pThioHis A, B & C, pcDNATM3.1/His, pEBVHis A, B & C (Invitrogen, San Diego, CA), MPSV, y otros numerosos vectores conocidos en la técnica para expresar otras proteínas. Los vectores virales útiles incluyen vectores basados en retrovirus, adenovirus, virus adenoasociados, virus herpes, vectores basados en SV40, virus del papiloma, virus de Epstein Barr HBP, vectores del virus vacuna y virus Semliki Forest (SFV). Véase Brent *et al.*, *supra*; Smith, Annu. Rev. Microbiol. 49:807, 1995; y Rosenfeld *et al.*, Cell 68:143, 1992.

[00366] La elección del vector de expresión depende de las células huésped previstas en las que se va a expresar el vector. Típicamente, los vectores de expresión contienen un promotor y otras secuencias reguladoras (*por ejemplo*, potenciadoras) que están operativamente unidas a los polinucleótidos que codifican una cadena o fragmento de anticuerpo anti-PMEL17. En algunas formas de realización, se emplea un promotor inducible para prevenir la expresión de secuencias insertadas excepto en condiciones inductoras. Los promotores inducibles incluyen, *por ejemplo*, arabinosa, lacZ, promotor de metalotioneína o un promotor de choque térmico. Los cultivos de organismos transformados pueden expandirse en condiciones no inductoras sin sesgar a la población para codificar secuencias cuyos productos de expresión son mejor tolerados por las células huésped. Además de los promotores, también se pueden requerir o desear otros elementos reguladores para la expresión eficiente de una cadena o fragmento de anticuerpo anti-PMEL17. Estos elementos típicamente incluyen un codón de iniciación ATG y un sitio de unión a ribosoma adyacente u otras secuencias. Además, la eficacia de la expresión puede mejorarse mediante la inclusión de potenciadores apropiados para el sistema celular en uso (véase, *por ejemplo*, Scharf *et al.*, Results Probl. Cell Differ. 20:125, 1994; y Bittner *et al.*, Meth. Enzymol., 153:516, 1987). Por ejemplo, el potenciador SV40 o el potenciador CMV pueden usarse para aumentar la expresión en células huésped de mamífero.

[00367] Los vectores de expresión también pueden proveer una posición de secuencia de señal de secreción para formar una proteína de fusión con polipéptidos codificados por las secuencias de anticuerpo anti-PMEL17 insertadas. Con mayor frecuencia, las secuencias de anticuerpo anti-PMEL17 insertadas se unen a una secuencia señal antes de su inclusión en el vector. Los vectores que se usarán para recibir secuencias que codifican los dominios variables

de cadena ligera y pesada del anticuerpo anti-PMEL17 a veces también codifican regiones constantes o partes de las mismas. Dichos vectores permiten la expresión de las regiones variables como proteínas de fusión con las regiones constantes, lo que conduce a la producción de anticuerpos intactos o fragmentos de los mismos. Típicamente, tales regiones constantes son humanas.

[00368] Las células huésped para alojar y expresar las cadenas de anticuerpos anti-PMEL17 pueden ser procariotas o eucariotas. *E. coli* es un huésped procariota útil para clonar y expresar los polinucleótidos de la presente invención. Otros huéspedes microbianos adecuados para su uso incluyen bacilos, como *Bacillus subtilis*, y otras enterobacterias, como *Salmonella*, *Serratia* y varias especies de *Pseudomonas*. En estos hospedadores procariotas, también se pueden preparar vectores de expresión, que típicamente contienen secuencias de control de expresión compatibles con la célula huésped (por ejemplo, un origen de replicación). Además, cualquier número de una variedad de promotores conocidos estarán presentes, como un sistema promotor de lactosa, un sistema promotor de triptófano (*trp*), un sistema promotor de beta-lactamasa o un sistema promotor de fago lambda. Los promotores típicamente controlan la expresión, opcionalmente con una secuencia de operador, y tienen secuencias de sitio de unión a ribosomas y similares, para iniciar y completar la transcripción y traducción. También se pueden emplear otros microbios, como la levadura, para expresar los polipéptidos de la invención anti-PMEL17. También se pueden usar vectores de células de insectos en combinación con baculovirus.

[00369] En algunas formas de realización preferidas, se usan células huésped de mamífero para expresar y producir los polipéptidos anti-PMEL17 de la presente invención. Por ejemplo, pueden ser una línea celular de hibridoma que expresa genes de inmunoglobulina endógena (por ejemplo, los clones de hibridoma de mieloma según lo descrito en los Ejemplos) o una línea celular de mamífero que aloja un vector de expresión exógena (por ejemplo, las células de mieloma SP2/0 que se ejemplifican a continuación). Estas incluyen cualquier célula animal o humana mortal normal o normal o anormal inmortal. Por ejemplo, se han desarrollado varias líneas de células huésped adecuadas capaces de secretar inmunoglobulinas intactas, incluidas las líneas celulares CHO, varias líneas celulares Cos, células HeLa, líneas celulares de mieloma, células B transformadas e hibridomas. El uso de un cultivo de células de tejido de mamífero para expresar polipéptidos se describe en general en, *por ejemplo*, Winnacker, *From Genes to Clones*, VCH Publishers, N.Y., N.Y., 1987. Los vectores de expresión para células huésped de mamífero pueden incluir secuencias de control de expresión, tales como un origen de replicación, un promotor y un potenciador (*véase, por*

ejemplo, Queen *et al.*, Immunol. Rev. 89:49-68, 1986), y sitios de información de procesamiento necesarios, tales como sitios de unión a ribosomas, sitios de corte y empalme de ARN, sitios de poliadenilación y secuencias terminadoras transcripcionales. Estos vectores de expresión generalmente contienen promotores derivados de genes de mamíferos o de virus de mamíferos. Los promotores adecuados pueden ser constitutivos, específicos del tipo de célula, específicos del estadio y/o modulables o regulables. Los promotores útiles incluyen, pero no se limitan a, el promotor de metalotioneína, el promotor tardío principal del adenovirus constitutivo, el promotor MMTV inducible por dexametasona, el promotor SV40, el promotor MRP polIII, el promotor constitutivo MPSV, el promotor CMV inducible por tetraciclina (tal como el promotor de CMV temprano inmediato humano), el promotor de CMV constitutivo y combinaciones de promotor-potenciador conocidas en la técnica.

[00370] Los métodos para la introducción de vectores de expresión que contengan las secuencias de polinucleótidos de interés varían dependiendo del tipo de huésped celular. Por ejemplo, comúnmente se utiliza la transfección con cloruro de calcio para las células procariotas, mientras que se puede utilizar el tratamiento con fosfato de calcio o electroporación para otros huéspedes celulares (véase en general Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4th ed.). Otros métodos incluyen, *por ejemplo*, electroporación, tratamiento con fosfato de calcio, transformación mediada por liposomas, inyección y microinyección, métodos balísticos, virosomas, inmunoliposomas, conjugados de polimerización:ácido nucleico, ADN desnudo, viriones artificiales, fusión a la proteína estructural VP22 del virus del herpes (Elliot and O'Hare, Cell 88:223, 1997), absorción mejorada de ADN mediante un agente, y transducción *ex vivo*. Para la producción a largo plazo de alto rendimiento de proteínas recombinantes, a menudo será conveniente una expresión estable. Por ejemplo, las líneas celulares que expresan establemente cadenas de anticuerpo anti-PMEL17 o fragmentos de unión pueden prepararse usando vectores de expresión de la invención que contienen orígenes virales de replicación o elementos de expresión endógenos y un gen marcador seleccionable. Después de la introducción del vector, se puede permitir que las células crezcan durante 1-2 días en un medio enriquecido antes de cambiar al medio selectivo. El propósito del marcador seleccionable es conferir resistencia a la selección, y su presencia permite el crecimiento de células que expresan con éxito las secuencias introducidas en medios selectivos. Las células resistentes y transfectadas de forma estable pueden proliferar utilizando técnicas de cultivo de tejidos apropiadas para el tipo de célula.

Usos Terapéuticos

[00371] Los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno), y conjugados de anticuerpo fármaco de la invención son útiles en una variedad de aplicaciones que incluyen, pero no se limitan a, tratamiento o prevención de cáncer, como cánceres sólidos o neoplasias hem. En ciertas formas de realización, los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno), y conjugados de anticuerpo fármaco de la invención son útiles para inhibir el crecimiento tumoral, inducir la diferenciación, reducir el volumen del tumor y/o reducir la tumorigenicidad de un tumor. Los métodos de uso pueden ser *in vitro*, *ex vivo* o *in vivo*.

[00372] En un aspecto, los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno), y conjugados de anticuerpo fármaco de la invención son útiles para detectar la presencia de PMEL17 en una muestra biológica. El término "detección" de acuerdo con la presente abarca la detección cuantitativa o cualitativa. En ciertas formas de realización, una muestra biológica comprende una célula o tejido. En ciertas formas de realización, tales tejidos incluyen tejidos normales y/o cancerosos que expresan PMEL17 a niveles más altos en relación con otros tejidos.

[00373] En un aspecto, la invención provee un método para detectar la presencia de PMEL17 en una muestra biológica. En ciertas formas de realización, el método comprende poner en contacto la muestra biológica con un anticuerpo anti-PMEL17 en condiciones permisivas para la unión del anticuerpo al antígeno y detectar si se forma un complejo entre el anticuerpo y el antígeno.

[00374] En un aspecto, la invención provee un método para diagnosticar un trastorno asociado con una mayor expresión de PMEL17. En ciertas formas de realización, el método comprende poner en contacto una célula de prueba con un anticuerpo anti-PMEL17; determinar el nivel de expresión (cuantitativa o cualitativamente) de PMEL17 en la célula de prueba mediante la detección de la unión del anticuerpo anti-PMEL17 al antígeno PMEL17; y comparar el nivel de expresión de PMEL17 en la célula de prueba con el nivel de expresión de PMEL17 en una célula de control (*por ejemplo*, una célula normal del mismo tejido de origen que la célula de prueba o una célula que expresa PMEL17 a niveles comparables con la célula normal), en donde un mayor nivel de expresión de PMEL17 en la célula de prueba en comparación con la célula de control indica la presencia de un trastorno asociado con una mayor expresión de PMEL17. En ciertas formas de realización, la célula de prueba se obtiene de un individuo que se sospecha padece un trastorno asociado con una mayor expresión de

PMEL17. En ciertas formas de realización, el trastorno es un trastorno proliferativo celular, como un cáncer o un tumor. En ciertas formas de realización, el método comprende medir el número de copias del gen PMEL17 en una célula de prueba.

[00375] En ciertas formas de realización, un método de diagnóstico o detección, como los descritos anteriormente, comprende detectar la unión de un anticuerpo anti-PMEL17 a PMEL17 que se expresa en la superficie de una célula o en una preparación de membrana obtenida de una célula que expresa PMEL17 en su superficie. Un ejemplo de ensayo para detectar la unión de un anticuerpo anti-PMEL17 a PMEL17 expresada en la superficie de una célula es un ensayo "FACS".

[00376] Se pueden usar otros métodos para detectar la unión de anticuerpos anti-PMEL17 a PMEL17. Tales métodos incluyen, pero no se limitan a, ensayos de unión a antígeno que son bien conocidos en la técnica, tales como transferencias de Western, radioinmunoensayos, ELISA (ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas), inmunoensayos "sandwich", ensayos de inmunoprecipitación, inmunoensayos fluorescentes, inmunoensayos de proteína A e inmunohistoquímica (IHC).

[00377] En ciertas formas de realización, los anticuerpos anti-PMEL17 están etiquetados. Las etiquetas incluyen, entre otras, etiquetas o restos que se detectan directamente (como marcadores fluorescentes, cromóforos, densos en electrones, quimioluminiscentes y radiactivos), así como restos, como enzimas o ligandos, que se detectan indirectamente, por ejemplo, a través de una reacción enzimática o interacción molecular.

[00378] En ciertas formas de realización, los anticuerpos anti-PMEL17 están inmovilizados en una matriz insoluble. La inmovilización implica separar el anticuerpo anti-PMEL17 de cualquier proteína PMEL17 que permanezca libre en solución. Esto se logra convencionalmente ya sea por insolubilización del anticuerpo anti-PMEL17 antes del procedimiento de ensayo, como por adsorción en una matriz o superficie insoluble en agua (Bennich et al, Patente Estadounidense Número 3,720,760), o por acoplamiento covalente (por ejemplo, usando entrecruzamiento de glutaraldehído), o insolubilizando el anticuerpo anti-PMEL17 después de la formación de un complejo entre el anticuerpo anti-PMEL17 y la proteína PMEL17, por ejemplo, por inmunoprecipitación.

[00379] Cualquiera de las formas de realización precedentes de diagnóstico o detección puede llevarse a la práctica usando un inmunoconjugado de la invención en lugar de o además de un anticuerpo anti-PMEL17.

[00380] En una forma de realización, la invención provee un método para tratar o prevenir una enfermedad que comprende administrar los anticuerpos, fragmentos de

anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno), o conjugados de anticuerpo fármaco de la invención a un paciente. La invención además provee el uso de los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno), o conjugados de anticuerpo fármaco de la invención para tratar o prevenir una enfermedad en un paciente. En algunas formas de realización, la invención provee anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno), o conjugados de anticuerpo fármaco de la invención para uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad en un paciente. En formas de realización adicionales, la invención provee el uso de los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno), o conjugados de anticuerpo fármaco de la invención en la fabricación de un medicamento para tratamiento o prevención de una enfermedad en un paciente.

[00381] En ciertas formas de realización, la enfermedad tratada con los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno), y conjugados de anticuerpo fármaco de la invención es un cáncer. En ciertas formas de realización, el cáncer está caracterizado por células que expresan PMEL17 a las cuales los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno), y conjugados de anticuerpo fármaco de la invención se une. En ciertas formas de realización, el cáncer está caracterizado por un incremento en la expresión de PMEL17 en relación con un paciente sano. En algunas formas de realización, la expresión de PMEL17 puede medirse mediante un aumento en el ARN de PMEL17. En otras formas de realización, el cáncer se caracteriza por un aumento en el número de copias de ADN de PMEL17. Los expertos en la técnica conocen otros métodos para medir o determinar los niveles de expresión de PMEL17. En ciertas formas de realización, el cáncer se caracteriza por una mutación, por ejemplo, una mutación de activación que afecta a Q209 o R183, en el gen GNAQ y/o GNA11. Los ejemplos de enfermedades que pueden tratarse y/o prevenirse incluyen, pero no se limitan a, melanoma, melanoma uveal, carcinoma hepatocelular, y un cáncer metastásico de los mismos.

[00382] La presente invención provee métodos para tratar o prevenir el cáncer que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno), o conjugados de anticuerpo fármaco de la invención. En ciertas formas de realización, el cáncer es un cáncer sólido tal como melanoma, melanoma uveal, melanoma uveal, carcinoma hepatocelular o un cáncer metastásico del mismo. En ciertas formas de realización, el sujeto es un ser humano. En ciertas formas de realización, el cáncer es un cáncer resistente y/o un cáncer recurrente.

[00383] En ciertas formas de realización, la invención provee métodos para inhibir el crecimiento tumoral que comprenden administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno), o conjugados de anticuerpo fármaco de la invención. En ciertas formas de realización, el tumor es de un cáncer sólido como melanoma, melanoma uveal, carcinoma hepatocelular, o un cáncer metastásico del mismo. En ciertas formas de realización, el sujeto es un ser humano. En ciertas formas de realización, el sujeto tiene un tumor o le extirparon un tumor.

[00384] En ciertas formas de realización, el tumor expresa el PMEL17 al que se une el anticuerpo anti-PMEL17. En ciertas formas de realización, el tumor sobreexpresa el PMEL17 humana. En ciertas formas de realización, el tumor tiene un aumento en el número de copias del gen PMEL17. En ciertas formas de realización, el tumor se caracteriza por una mutación, por ejemplo, una mutación de activación que afecta a Q209 o R183, en el gen GNAQ y/o GNA11.

[00385] La presente invención además provee métodos de selección de pacientes para el tratamiento con anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno), o conjugados de anticuerpo fármaco de la invención que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de dichos anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno), o conjugados de anticuerpo fármaco. En ciertos aspectos de la invención los métodos comprenden seleccionar un paciente midiendo la expresión de PMEL17. En ciertos aspectos de la invención los métodos comprenden seleccionar un paciente identificando una mutación, por ejemplo, una mutación activadora que afecta a Q209 o R183, en el gen GNAQ o GNA11. En ciertas formas de realización, los métodos comprenden medir el nivel de expresión de PMEL17 en el paciente, así como detectar el gen GNAQ y/o GNA11.

[00386] Para el tratamiento o prevención de la enfermedad, la dosificación apropiada de los anticuerpos, fragmentos de anticuerpos (*por ejemplo*, fragmentos de unión a antígeno) o conjugados de anticuerpo de la presente invención depende de varios factores, como el tipo de enfermedad a tratar, la gravedad y el curso de la enfermedad, la capacidad de respuesta de la enfermedad, la terapia previa, la historia clínica del paciente, etc. El anticuerpo o agente puede administrarse una vez o durante una serie de tratamientos que duran desde varios días hasta varios meses, o hasta que se efectúe una cura o se logre una disminución del estado de la enfermedad (*por ejemplo*, reducción del tamaño del tumor). Los cronogramas de dosificación óptimos se pueden calcular a partir de mediciones de la acumulación del fármaco en el cuerpo

del paciente y variarán según la potencia relativa del anticuerpo, fragmento de anticuerpo (por ejemplo, fragmento de unión a antígeno) o conjugados de anticuerpo fármaco dados. El médico tratante podrá estimar las tasas de repetición para la dosificación en función de los tiempos de residencia medidos y las concentraciones del fármaco en los fluidos o tejidos corporales.

Terapia de Combinación

[00387] En ciertos casos, un anticuerpo, fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmento de unión a antígeno), o conjugado de anticuerpo fármaco de la presente invención se combina con otros tratamientos terapéuticos, como cirugía y radioterapia, agentes terapéuticos, como otros agentes contra el cáncer, agentes antialérgicos, agentes contra las náuseas (o antieméticos), analgésicos, agentes citoprotectores y combinaciones de los mismos.

[00388] En una forma de realización, un anticuerpo, fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmento de unión a antígeno), o conjugado de anticuerpo fármaco de la presente invención se combina en una formulación de combinación farmacéutica, o régimen de dosificación como terapia de combinación, con un segundo compuesto que tiene propiedades anticancerígenas. El segundo compuesto de la formulación de combinación farmacéutica o régimen de dosificación puede tener actividades complementarias al anticuerpo o inmunoconjugado de la combinación de manera que no se afecten negativamente entre sí. Por ejemplo, un anticuerpo, fragmento de anticuerpo (*por ejemplo*, fragmento de unión a antígeno), o conjugado de anticuerpo fármaco de la presente invención puede administrarse en combinación con, entre otros, un agente quimioterapéutico, agentes inmunomoduladores, un inhibidor de tirosina quinasa, un inhibidor de la ruta de señalización corriente abajo de GNAQ/GNA11, inhibidores de IAP, inhibidores de Bcl2, inhibidores de Mcl1 y otros inhibidores de GNAQ/GNA11.

[00389] El término “combinación farmacéutica” de acuerdo con la presente se refiere a ya sea una combinación fija en una forma unitaria de dosificación, o una combinación no fija o un kit de partes para la administración combinada donde dos o más agentes terapéuticos pueden administrarse independientemente al mismo tiempo o por separado dentro de intervalos de tiempo, especialmente donde estos intervalos de tiempo permiten que los componentes combinados demuestren un efecto cooperativo, por ejemplo, sinérgico.

[00390] El término “terapia de combinación” se refiere a la administración de dos o más agentes terapéuticos para tratar o prevenir una afección o trastorno terapéutico descrito en la presente invención. Dicha administración contempla la coadministración de estos agentes

terapéuticos de una manera sustancialmente simultánea, como en una sola cápsula que tiene una proporción fija de ingredientes activos. Alternativamente, dicha administración contempla la administración conjunta en contenedores múltiples o separados (por ejemplo, cápsulas, polvos y líquidos) para cada ingrediente activo. Los polvos y/o líquidos pueden reconstituirse o diluirse a una dosis deseada antes de la administración. Además, dicha administración también abarca el uso de cada tipo de agente terapéutico de manera secuencial, ya sea aproximadamente al mismo tiempo o en momentos diferentes. En cualquier caso, el régimen de tratamiento proporcionará los efectos beneficiosos de la combinación de fármacos en el tratamiento o prevención de las afecciones o trastornos descritos en la presente.

[00391] La terapia de combinación puede proveer "sinergia" y demostrar un efecto "sinérgico", es decir, el efecto logrado cuando los ingredientes activos usados juntos es mayor que la suma de los efectos que resultan del uso de los compuestos por separado. Se puede lograr un efecto sinérgico cuando los ingredientes activos son: (1) formulados conjuntamente y administrados o entregados simultáneamente en una formulación combinada de dosificación unitaria; (2) entregados con alternancia o en paralelo como formulaciones separadas; o (3) mediante otro régimen. Cuando se entregan bajo una terapia de alternancia, se puede lograr un efecto sinérgico cuando los compuestos se administran o entregan secuencialmente, por ejemplo, mediante diferentes inyecciones en jeringas separadas. En general, durante la terapia de alternancia, una dosis efectiva de cada ingrediente activo se administra secuencialmente, es decir, en serie, mientras que en la terapia de combinación, las dosis efectivas de dos o más ingredientes activos se administran juntas.

[00392] Los agentes quimioterapéuticos generales considerados para su uso en terapias de combinación incluyen anastrozol (Arimidex[®]), bicalutamida (Casodex[®]), bleomicina sulfato (Blenoxane[®]), busulfano (Myleran[®]), inyección de busulfano (Busulfex[®]), capecitabina (Xeloda[®]), N4-pentoxicarbonil-5-desoxi-5-fluorocitidina, carboplatina (Paraplatin[®]), carmustina (BiCNU[®]), clorambucilo (Leukeran[®]), cisplatina (Platinol[®]), cladribina (Leustatin[®]), ciclofosfamida (Cytoxan[®] o Neosar[®]), citarabina, citosina arabinósido (Cytosar-U[®]), inyección de liposoma de citarabina (DepoCyt[®]), dacarbazina (DTIC-Dome[®]), dactinomicina (Actinomycin D, Cosmegen), daunorubicina clorhidrato (Cerubidine[®]), inyección de liposoma de citrato de daunorubicina (DaunoXome[®]), dexametasona, docetaxel (Taxotere[®]), doxorubicina clorhidrato (Adriamycin[®], Rubex[®]), etopósido (Vepesid[®]), fludarabina fosfato (Fludara[®]), 5-fluorouracilo (Atracil[®], Efudex[®]), flutamida (Eulexin[®]), tezacitibina, Gemcitabina

(difluorodesoxicitidina), hidroxiurea (Hydrea[®]), Idarubicina (Idamycin[®]), ifosfamida (IFEX[®]), irinotecan (Camptosar[®]), L-asparaginasa (ELSPAR[®]), leucovorina cálcica, melfalan (Alkeran[®]), 6-mercaptopurina (Purinethol[®]), metotrexato (Folex[®]), mitoxantrona (Novantrone[®]), mylotarg, paclitaxel (Taxol[®]), phoenix (Itrio 90/MX-DTPA), pentostatina, polifeprosan 20 con implante de carmustina (Gliadel[®]), tamoxifeno citrato (Nolvadex[®]), tenipósido (Vumon[®]), 6-tioguanina, tiotepa, tirapazamina (Tirazone[®]), topotecan clorhidrato inyectable (Hycamptin[®]), vinblastina (Velban[®]), vincristina (Oncovin[®]), y vinorelbina (Navelbine[®]), y pemetrexed.

[00393] En un aspecto, la presente invención provee un método para tratar o prevenir el cáncer administrando a un sujeto que lo necesita un conjugado de anticuerpo fármaco de la presente invención en combinación con uno o más inhibidores de MDM2, inhibidores de PKC, inhibidores de PRC2, inhibidores de MAPK, inhibidores de GPCR, inhibidores de tirosina quinasa, que incluyen entre otros, inhibidores de BTK, inhibidores de EGFR, inhibidores de Her2, inhibidores de Her3, inhibidores de IGFR, e inhibidores de Met.

[00394] Por ejemplo, los inhibidores de MDM2 incluyen pero no se limitan a, RG7112 (RO5045337); RG7388 (RO5503781, Idasanutlin); MI-77301 (SAR405838); MK-8242 (SCH-900242); AMG232; CGM097; DS3032b; HDM201; y ALRN-6924.

[00395] Por ejemplo, los inhibidores de PKC incluyen pero no se limitan a, Balanol; Riluzol; Eestaurosporinaa; Enzastaurina; δV1-1 (KAI-9803 o Delcasertib); εV1-2 (KAI-1678); Aprinocarsen; Midostaurina (PKC412); UCN-01 (7-hidroxi-estaurosporina); Rottlerin (5, 7, dihidroxi-2,2-dimetil-6-(2,4,6-trihidroxi-3-metil-5-acetilbencil)-8-cinamoil-1,2- cromeno); y Briostatina 1.

[00396] Por ejemplo, los inhibidores de PRC2 incluyen pero no se limitan a, EI1; EPZ011989; EPZ005687; Tetrametilpiperidinil Benzamidas; UNC1999; y GSK126.

[00397] Por ejemplo, los inhibidores de MAPK incluyen pero no se limitan a, Vemurafenib (Zelboraf); dabrafenib (Tafinlar); encorafenib (Braftovi); trametinib (Mekinist); cobimetinib (Cotellic); binimetinib (Mektovi); y ulixertinib.

[00398] Por ejemplo, los inhibidores de tirosina quinasa incluyen pero no se limitan a, Ibrutinib (PCI-32765); Erlotinib clorhidrato (Tarceva[®]); Linifanib (N-[4-(3-amino-1H-indazol-4-il)fenil]-N'-(2-fluoro-5-metilfenil)urea, también conocido como ABT 869, comercializado por Genentech); Sunitinib malato (Sutent[®]); Bosutinib (4-[(2,4-dicloro-5-metoxifenil)amino]-6-metoxi-7-[3-(4-metilpiperazin-1-il) propoxi]quinolina-3-carbonitrilo, también conocido como SKI-606, y descrito en la Patente Estadounidense Nro. 6,780,996); Dasatinib (Sprycel[®]);

Pazopanib (Votrient®); Sorafenib (Nexavar®); Zactima (ZD6474); e Imatinib o Imatinib mesilato (Gilevec® y Gleevec®).

[00399] Los inhibidores del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) incluyen pero no se limitan a, Erlotinib clorhidrato (Tarceva®), Gefitinib (Iressa®); N-[4-[(3-Cloro-4-fluorofenil)amino]-7-[[[(3"S)-tetrahidro-3-furanil]oxi]-6-quinazolinil]-4(dimetilamino)-2-butenamida, Tovok®); Vandetanib (Caprelsa®); Lapatinib (Tykerb®); (3R,4R)-4-Amino-1-((4-((3-metoxifenil)amino)pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-5-il) metil)piperidin-3-ol (BMS690514); Canertinib diclorhidrato (CI-1033); 6-[4-[(4-Etil-1-piperazinil) metil]fenil]-N-[(1R)-1-feniletil]- 7H-Pirrolo[2,3-d]pirimidin-4-amina (AEE788, CAS 497839-62-0); Mubritinib (TAK165); Pelitinib (EKB569); Afatinib (BIBW2992); Neratinib (HKI-272); ácido N-[4-[[1-[(3-Fluorofenil)metil]-1H-indazol-5-il] amino]-5-metilpirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-6-il]-carbámico, (3S)-3-morfolinilmetil éster (BMS599626); N-(3,4-Dicloro-2-fluorofenil)-6-metoxi-7-[[[(3 α ,5 β ,6 α)-octahidro-2-metilciclopenta[c]pirrol-5-il] metoxi]- 4-quinazolinamina (XL647, CAS 781613-23-8); y 4-[4-[[[(1R)-1-Feniletil]amino]-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidin-6-il]-fenol (PKI166, CAS 187724-61-4).

[00400] Los anticuerpos de EGFR incluyen pero no se limitan a, Cetuximab (Erbix®); Panitumumab (Vectibix®); Matuzumab (EMD-72000); ; Nimotuzumab (hR3); Zalutumumab; TheraCIM h-R3; MDX0447 (CAS 339151-96-1); y ch806 (mAb-806, CAS 946414-09-1).

[00401] Los inhibidores del Receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (receptor Her2) (también conocido como Neu, ErbB-2, CD340, o p185) incluyen pero no se limitan a, Trastuzumab (Herceptin®); Pertuzumab (Omnitarg®); trastuzumab emtansina (Kadcyla®); Neratinib (HKI-272, (2E)-N-[4-[[3-cloro-4-[(piridin-2-il) metoxi]fenil]amino]-3-ciano-7-etoxiquinolin-6-il] -4-(dimetilamino)but-2-enamida, y descrito en la Publicación por el PCT Nro. WO 05/028443); Lapatinib o Lapatinib ditosilato (Tykerb®); (3R,4R)-4-amino-1-((4-((3-metoxifenil)amino)pirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-5-il) metil)piperidin-3-ol (BMS690514); (2E)-N-[4-[(3-Cloro-4-fluorofenil)amino]-7-[[[(3S)-tetrahidro-3-furanil]oxi]-6-quinazolinil]-4-(dimetilamino)-2-butenamida (BIBW-2992, CAS 850140-72-6); ácido N-[4-[[1-[(3-Fluorofenil)metil]-1H-indazol-5-il] amino]-5-metilpirrolo[2,1-f][1,2,4]triazin-6-il] -carbámico, (3S)-3-morfolinilmetil éster (BMS 599626, CAS 714971-09-2); Canertinib diclorhidrato (PD183805 o CI-1033); y N-(3,4-Dicloro-2-fluorofenil)-6-metoxi-7-[[[(3 α ,5 β ,6 α)-octahidro-2-metilciclopenta[c]pirrol-5-il] metoxi]- 4-quinazolinamina (XL647, CAS 781613-23-8).

[00402] Los inhibidores de Her3 incluyen pero no se limitan a, LJM716, MM-121, AMG-888, RG7116, REGN-1400, AV-203, MP-RM-1, MM-111, y MEHD-7945A.

[00403] Los inhibidores de MET incluyen pero no se limitan a, Cabozantinib (XL184, CAS 849217-68-1); Foretinib (GSK1363089, anteriormente XL880, CAS 849217-64-7); Tivantinib

(ARQ197, CAS 1000873-98-2); 1-(2-Hidroxi-2-metilpropil) -N-(5-(7-metoxiquinolin-4-iloxi) piridin-2-il) -5-metil-3-oxo-2-fenil-2,3-dihidro-1H-pirazol-4-carboxamida (AMG 458); Crizotinib (Xalkori®, PF-02341066); (3Z)-5-(2,3-Dihidro-1H-indol-1-ilsulfonil) -3-({3,5-dimetil-4-[(4-metilpiperazin-1-il) carbonil]-1H-pirrol-2-il}metilen)-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (SU11271); (3Z)-N-(3-Clorofenil)-3-({3,5-dimetil-4-[(4-metilpiperazin-1-il) carbonil]-1H-pirrol-2-il}metilen)-N-metil-2-oxoindolina-5-sulfonamida (SU11274); (3Z)-N-(3-Clorofenil)-3-[[3,5-dimetil-4-(3-morfolin-4-ilpropil) -1H-pirrol-2-il] metilen]-N-metil-2-oxoindolina-5-sulfonamida (SU11606); 6-[Difluoro[6-(1-metil-1H-pirazol-4-il) -1,2,4-triazolo[4,3-b]piridazin-3-il] metil]-quinolina (JNJ38877605, CAS 943540-75-8); 2-[4-[1-(Quinolin-6-ilmetil)-1H-[1,2,3]triazolo[4,5-b]pirazin-6-il] -1H-pirazol-1-il] etanol (PF04217903, CAS 956905-27-4); N-((2R)-1,4-Dioxan-2-ilmetil)-N-metil-N'-[3-(1-metil-1H-pirazol-4-il) -5-oxo-5H-benzo[4,5]ciclohepta[1,2-b]piridin-7-il] sulfamida (MK2461, CAS 917879-39-1); 6-[[6-(1-Metil-1H-pirazol-4-il) -1,2,4-triazolo[4,3-b]piridazin-3-il] tio]-quinolina (SGX523, CAS 1022150-57-7); y (3Z)-5-[[2,6-Diclorofenil]metil]sulfonil]-3-[[3,5-dimetil-4-[(2R)-2-(1-pirrolidinilmetil)-1-pirrolidinil]carbonil]-1H-pirrol-2-il] metilen]-1,3-dihidro-2H-indol-2-ona (PHA665752, CAS 477575-56-7).

[00404] Los inhibidores de IGF1R incluyen pero no se limitan a, BMS-754807, XL-228, OSI-906, GSK0904529A, A-928605, AXL1717, KW-2450, MK0646, AMG479, IMCA12, MEDI-573, y BI836845. Véase *por ejemplo*, Yee, JNCI, 104; 975 (2012) para su revisión.

[00405] En otro aspecto, la presente invención provee un método para tratar o prevenir el cáncer administrando a un sujeto que lo necesita un conjugado de anticuerpo fármaco de la presente invención en combinación con uno o más inhibidores de la vía de señalización corriente debajo de GNAQ/GNA11, que incluyen pero no se limitan a, inhibidores de β -arrestina, inhibidores de GRK, inhibidores de MAPK, inhibidores de PI3K, inhibidores de JAK, etc.

[00406] Por ejemplo, los inhibidores de la fosfoinositida 3-quinasa (PI3K) incluyen pero no se limitan a, Idelalisib (Zydelig, GS-1101, Cal-101), 4-[2-(1H-Indazol-4-il) -6-[[4-(metilsulfonil) piperazin-1-il] metil]tieno[3,2-d]pirimidin-4-il] morfolino (también conocido como GDC 0941 y descrito en las Publicaciones por el PCT Nros. WO 09/036082 y WO 09/055730); 2-Metil-2-[4-[3-metil-2-oxo-8-(quinolin-3-il) -2,3-dihidroimidazo[4,5-c]quinolin-1-il] fenil]propionitrilo (también conocido como BEZ 235 o NVP-BEZ 235, y descrito en la Publicación por el PCT Nro. WO 06/122806); 4-(trifluorometil)-5-(2,6-dimorfolinopirimidin-4-il) piridin-2-amina (también conocido como BKM120 o NVP-BKM120, y descrito en la Publicación por el PCT Nro. WO2007/084786); Tozasertib (VX680 o MK-0457, CAS 639089-54-6); (5Z)-5-[[4-(4-Piridinil) -6-quinolinil]metilen]-2,4-tiazolidinediona (GSK1059615, CAS 958852-01-2);

(1E,4S,4aR,5R,6aS,9aR)-5-(Acetiloxi)-1-[(di-2-propenilamino)metilen]-4,4a,5,6,6a,8,9,9a-octahidro-11-hidroxi-4-(metoximetil)-4a,6a-dimetil-ciclopenta[5,6]nafto[1,2-c]piran-2,7,10(1H)-triona (PX866, CAS 502632-66-8); y 8-Fenil-2-(morfolin-4-il)-cromen-4-ona (LY294002, CAS 154447-36-6).

[00407] En aún otro aspecto, la presente invención provee un método para tratar o prevenir el cáncer administrando a un sujeto que lo necesita un conjugado de anticuerpo fármaco de la presente invención en combinación con uno o más pro-apoptosis, que incluyen pero no se limitan a, inhibidores de IAP, inhibidores de Bcl2, inhibidores de Mcl1, agentes Trail, inhibidores de Chk.

[00408] Por ejemplo, los inhibidores de IAP incluyen pero no se limitan a, LCL161, GDC-0917, AEG-35156, AT406, y TL32711. Otros ejemplos de inhibidores de IAP incluyen pero no se limitan a aquellos divulgados en WO04/005284, WO 04/007529, WO05/097791, WO 05/069894, WO 05/069888, WO 05/094818, US2006/0014700, US2006/0025347, WO 06/069063, WO 06/010118, WO 06/017295, y WO08/134679, todos los cuales se incorporan a la presente como referencia.

[00409] Los inhibidores de BCL-2 incluyen pero no se limitan a, Venetoclax (también conocido como GDC-0199, ABT-199, RG7601); 4-[4-[[2-(4-Clorofenil)-5,5-dimetil-1-ciclohexen-1-il] metil]-1-piperazinil]-N-[[4-[[[(1R)-3-(4-morfolinil)-1-[(feniltio)metil]propil]amino]-3-[(trifluorometil)sulfonyl]fenil]sulfonyl]benzamida (también conocido como ABT-263 y descrito en la Publicación por el PCT Nro. WO 09/155386); Tetrocarcina A; Antimicina; Gosipol ((-)BL-193); Obatoclax; Etil-2-amino-6-ciclopentil-4-(1-ciano-2-etoxi-2-oxoetil)-4Hcromona-3-carboxilato (HA14 – 1); Oblimersen (G3139, Genasense®); péptido Bak BH3; ácido acético de (-)-Gosipol (AT-101); 4-[4-[(4'-Cloro[1,1'-bifenil]-2-il) metil]-1-piperazinil]-N-[[4-[[[(1R)-3-(dimetilamino)-1-[(feniltio)metil]propil]amino]-3-nitrofenil]sulfonyl]-benzamida (ABT-737, CAS 852808-04-9); y Navitoclax (ABT-263, CAS 923564-51-6).

[00410] Los agonistas del receptor proapoptótico (PARAs) que incluyen DR4 (TRAILR1) y DR5 (TRAILR2), incluyen pero no se limitan a, Dulanermina (AMG-951, RhApo2L/TRAIL); Mapatumumab (HRS-ETR1, CAS 658052-09-6); Lexatumumab (HGS-ETR2, CAS 845816-02-6); Apomab (Apomab®); Conatumumab (AMG655, CAS 896731-82-1); y Tigatuzumab (CS1008, CAS 946415-34-5, comercializado por Daiichi Sankyo).

[00411] Los inhibidores del punto de control de la quinasa (CHK) incluyen pero no se limitan a, 7-Hidroxiestaurosporina (UCN-01); 6-Bromo-3-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-5-(3R)-3-piperidinil-pirazolo[1,5-a]pirimidin-7-amina (SCH900776, CAS 891494-63-6); ácido 5-(3-Fluorofenil)-3-ureidotiofeno-2-carboxílico N-[(S)-piperidin-3-il] amida (AZD7762, CAS 860352-

01-8); 4-(((3S)-1-Azabicyclo[2.2.2]oct-3-il) amino]-3-(1H-benzimidazol-2-il) -6-cloroquinolin-2(1H)-ona (CHIR 124, CAS 405168-58-3); 7-Aminodactinomicina (7-AAD), Isogranulatimida, debromohimenialdisina; N-[5-Bromo-4-metil-2-[(2S)-2-morfolinilmetoxi]-fenil]-N'-(5-metil-2-pirazinil) urea (LY2603618, CAS 911222-45-2); Sulforafano (CAS 4478-93-7, 4-Metilsulfinilbutil isotiocianato); 9,10,11,12-Tetrahidro- 9,12-epoxi-1*H*-diindolo[1,2,3-*fg*:3',2',1'-*k'*]pirrolo[3,4-*l*][1,6]benzodiazocina-1,3(2*H*)-diona (SB-218078, CAS 135897-06-2); y TAT-S216A (YGRKKRRQRRRLYRSPAMPENL (SEQ ID NO: 282)), y CBP501 ((d-Bpa)sws(d-Phe-F5)(d-Cha)rrrqrr).

[00412] En una forma de realización adicional, la presente invención provee un método para tratar o prevenir el cáncer administrando a un sujeto que lo necesita un conjugado de anticuerpo fármaco de la presente invención en combinación con uno o más inmunomoduladores (*por ejemplo*, uno o más de: un activador de una molécula coestimuladora o un inhibidor de una molécula del punto de control inmune).

[00413] En ciertas formas de realización, el inmunomodulador es un activador de una molécula coestimuladora. En una forma de realización, el agonista de la molécula coestimuladora se selecciona entre un agonista (*por ejemplo*, un anticuerpo agonista o fragmento de unión a antígeno del mismo, o una fusión soluble) de OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3, STING, o ligando CD83.

[00414] En ciertas formas de realización, el inmunomodulador es un inhibidor de una molécula del punto de control inmune. En una forma de realización, el inmunomodulador es un inhibidor de PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 y/o TGFR beta. En una forma de realización, el inhibidor de una molécula del punto de control inmune inhibe PD-1, PD-L1, LAG-3, TIM-3 o CTLA4, o cualquier combinación de las mismas. El término “inhibición” o “inhibidor” incluye una reducción en un determinado parámetro, *por ejemplo*, una actividad, de una molécula dada, *por ejemplo*, un inhibidor del punto de control inmune. *Por ejemplo*, este término incluye la inhibición de una actividad, *por ejemplo*, una actividad de PD-1 o PD-L1, de al menos 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% o más. *Por lo tanto*, la inhibición no necesita ser del 100%.

[00415] La inhibición de una molécula inhibidora se puede realizar a nivel de ADN, ARN o proteína. En algunas formas de realización, un ácido nucleico inhibitorio (*por ejemplo*, un ARNs, ARNs_i o ARNs_h), puede usarse para inhibir la expresión de una molécula inhibidora. En otras formas de realización, el inhibidor de una señal inhibidora es un polipéptido, *por ejemplo*, un ligando soluble (*por ejemplo*, PD-1-Ig o CTLA-4 Ig), o un anticuerpo o fragmento de

unión a antígeno del mismo, que se une a la molécula inhibidora; por ejemplo, un anticuerpo o fragmento del mismo (también denominado en la presente "molécula de anticuerpo") que se une a PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 y/o TGFR beta, o una combinación de las mismas.

[00416] En una forma de realización, la molécula de anticuerpo es un anticuerpo completo o fragmento del mismo (*por ejemplo*, un Fab, F(ab')₂, Fv, o un fragmento Fv de cadena única (scFv)). En aún otras formas de realización, la molécula de anticuerpo tiene una región constante de cadena pesada (Fc) seleccionada entre, *por ejemplo*, las regiones constantes de cadena pesada de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD, e IgE; particularmente, seleccionada entre, *por ejemplo*, las regiones constantes de cadena pesada de IgG1, IgG2, IgG3, y IgG4, más aún, la región constante de cadena pesada de IgG1 o IgG4 (*por ejemplo*, IgG1 o IgG4 humana). En una forma de realización, la región constante de cadena pesada es IgG1 humana o IgG4 humana. En una forma de realización, la región constante se altera, por ejemplo, muta, para modificar las propiedades de la molécula de anticuerpo (por ejemplo, para aumentar o disminuir uno o más entre: unión al receptor Fc, glucosilación del anticuerpo, número de residuos de cisteína, función de la célula efectora, o función del complemento).

[00417] En ciertas formas de realización, la molécula de anticuerpo está en forma de una molécula de anticuerpo biespecífico o multiespecífico. En una forma de realización, la molécula de anticuerpo biespecífico tiene una primera especificidad de unión hacia PD-1 o PD-L1 y una segunda especificidad de unión, *por ejemplo*, una segunda especificidad de unión hacia TIM-3, LAG-3, o PD-L2. En una forma de realización, la molécula de anticuerpo biespecífico se une a PD-1 o PD-L1 y TIM-3. En otra forma de realización, la molécula de anticuerpo biespecífico se une a PD-1 o PD-L1 y LAG-3. En otra forma de realización, la molécula de anticuerpo biespecífico se une a PD-1 y PD-L1. En aún otra forma de realización, la molécula de anticuerpo biespecífico se une a PD-1 y PD-L2. En otra forma de realización, la molécula de anticuerpo biespecífico se une a TIM-3 y LAG-3. Cualquier combinación de las moléculas mencionadas anteriormente puede realizarse en una molécula de anticuerpo multiespecífico, por ejemplo, un anticuerpo triespecífico que incluye una primera especificidad de unión a PD-1 o PD-L1, y una segunda y tercera especificidades de unión hacia dos o más de: TIM-3, LAG-3, o PD-L2.

[00418] En ciertas formas de realización, el inmunomodulador es un inhibidor de PD-1, *por ejemplo*, PD-1 humana. En otra forma de realización, el inmunomodulador es un inhibidor de PD-L1, *por ejemplo*, PD-L1 humana. En una forma de realización, el inhibidor de PD-1 o

PD-L1 es una molécula de anticuerpo para PD-1 o PD-L1. El inhibidor de PD-1 o PD-L1 puede administrarse solo, o en combinación con otros inmunomoduladores, *por ejemplo*, en combinación con un inhibidor de LAG-3, TIM-3 o CTLA4. En un ejemplo de forma de realización, el inhibidor de PD-1 o PD-L1, *por ejemplo*, la molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1, se administra en combinación con un inhibidor de LAG-3, *por ejemplo*, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3. En otra forma de realización, el inhibidor de PD-1 o PD-L1, *por ejemplo*, la molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1, se administra en combinación con un inhibidor de TIM-3, *por ejemplo*, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3. En aún otras formas de realización, el inhibidor de PD-1 o PD-L1, *por ejemplo*, la molécula de anticuerpo anti-PD-1, se administra en combinación con un inhibidor de LAG-3, *por ejemplo*, una molécula de anticuerpo anti-LAG-3, y un inhibidor de TIM-3, *por ejemplo*, una molécula de anticuerpo anti-TIM-3. Otras combinaciones de inmunomoduladores con un inhibidor de PD-1 (por ejemplo, uno o más de PD-L2, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 y/o TGFR) también caen dentro del alcance de la presente invención. Cualquiera de las moléculas de anticuerpo conocidas en la técnica o descritas en la presente puede usarse en las combinaciones de inhibidores de molécula de punto de control mencionadas anteriormente.

[00419] En una forma de realización, el inhibidor de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1 seleccionado entre Nivolumab, Pembrolizumab o Pidilizumab. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-PD-1 es Nivolumab. Los nombres alternativos para Nivolumab incluyen MDX- 1106, MDX-1106-04, ONO-4538, o BMS-936558. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-PD- 1 es Nivolumab (Número de Registro CAS: 946414-94-4). Nivolumab es un anticuerpo monoclonal IgG4 completamente humano que bloquea específicamente PD1. Nivolumab (clon 5C4) y otros anticuerpos monoclonales humanos que se unen específicamente a PD1 están descritos en la Patente Estadounidense Nro. 8,008,449 y en la Publicación por el PCT Nro. WO2006/121168.

[00420] En otras formas de realización, el anticuerpo anti-PD-1 es Pembrolizumab. Pembrolizumab (Nombre comercial KEYTRUDA anteriormente Lambrolizumab, también conocido como Merck 3745, MK-3475 o SCH-900475) es un anticuerpo monoclonal IgG4 humanizado que se une a PD1. Pembrolizumab está descrito, *por ejemplo*, en Hamid, O. *et al.* (2013) *New England Journal of Medicine* 369 (2): 134–44, Publicación por el PCT Nro. WO2009/114335, y en la Patente Estadounidense Nro. 8,354,509.

[00421] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-PD-1 es Pidilizumab. Pidilizumab (CT-011; Cure Tech) es un anticuerpo monoclonal IgG1k humanizado que se une a PD1. Pidilizumab y otros anticuerpos monoclonales anti-PD-1 humanizados están descritos

en la Publicación por el PCT Nro. WO2009/101611. Otros anticuerpos anti-PD1 están descritos en la Patente Estadounidense Nro. 8,609,089, Publicación de Patente Estadounidense Nro. 2010028330, y/o Publicación de Patente Estadounidense Nro. 20120114649. Otros anticuerpos anti-PD1 incluyen AMP 514 (Amplimmune).

[00422] En algunas formas de realización, el inhibidor de PD-1 es PDR001, también conocido como spartalizumab, o cualquier otro anticuerpo anti-PD-1 descrito en WO2015/112900.

[00423] En algunas formas de realización, el inhibidor de PD-1 es una inmunoadhesina (*por ejemplo*, una inmunoadhesina que comprende una porción extracelular o de unión a PD-1 de PD-L1 o PD-L2 fusionada a una región constante (*por ejemplo*, una región Fc de una secuencia de inmunoglobulina). En algunas formas de realización, el inhibidor de PD-1 es AMP-224.

[00424] En algunas formas de realización, el inhibidor de PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-L1. En algunas formas de realización, el inhibidor anti-PD-L1 se selecciona entre YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, o MDX-1105MSB-0010718C (también denominado A09-246-2) descrito en, *por ejemplo*, WO 2013/0179174, y que tiene una secuencia divulgada en la presente (o una secuencia sustancialmente idéntica o similar a la misma, *por ejemplo*, una secuencia al menos 85%, 90%, 95% idéntica o más respecto de la secuencia especificada).

[00425] En una forma de realización, el inhibidor de PD-L1 es MDX-1105. MDX-1105, también conocido como BMS-936559, es un anticuerpo anti-PD-L1 descrito en la Publicación por el PCT Nro. WO2007/005874.

[00426] En una forma de realización, el inhibidor de PD-L1 es YW243.55.S70. El anticuerpo YW243.55.S70 es un anti-PD-L1 descrito en la Publicación por el PCT Nro. WO 2010/077634 (secuencias de la región variable de cadena pesada y ligera de acuerdo con las SEQ ID Nos. 20 y 21, respectivamente).

[00427] En una forma de realización, el inhibidor de PD-L1 es MDPL3280A (Genentech/Roche). MDPL3280A es un anticuerpo monoclonal IgG1 optimizado para Fc humano que se une a PD-L1. MDPL3280A y otros anticuerpos monoclonales humanos para PD-L1 están descritos en la Patente Estadounidense Nro.: 7,943,743 y la Publicación de Patente Estadounidense Nro.: 20120039906.

[00428] En otras formas de realización, el inhibidor de PD-L2 es AMP-224. AMP-224 es un receptor soluble de fusión de PD-L2 Fc que bloquea la interacción entre PD1 y B7-H1 (B7-DCIg; Amplimmune; *por ejemplo*, descrito en las Publicaciones por el PCT Nros. WO2010/027827 y WO2011/066342).

[00429] En una forma de realización, el inhibidor de LAG-3 es una molécula de anticuerpo anti-LAG-3. En una forma de realización, el inhibidor de LAG-3 es BMS-986016. En una forma de realización, el inhibidor de LAG-3 es LAG525 o cualquier anticuerpo anti-LAG3 divulgado en WO2015/138920.

[00430] En una forma de realización, el inhibidor de TIM-3 es una molécula de anticuerpo anti-TIM3. En una forma de realización, el inhibidor de TIM-3 es MBG453 o cualquier anticuerpo anti-TIM3 descrito en WO2015/117002.

Composiciones Farmacéuticas

[00431] Para preparar composiciones farmacéuticas o estériles que incluyen inmunoconjugados, los inmunoconjugados de la invención se mezclan con un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable. Las composiciones pueden contener adicionalmente uno o más agentes terapéuticos que son adecuados para tratar o prevenir un cáncer que expresa PMEL17 (incluyendo, pero no limitado a, melanoma subcutáneo, melanoma uveal, carcinoma hepatocelular, y un cáncer metastásico de los mismos).

[00432] Las formulaciones de agentes terapéuticos y de diagnóstico se pueden preparar mezclando con portadores, excipientes o estabilizadores fisiológicamente aceptables en forma de, por ejemplo, polvos liofilizados, suspensiones de partículas, soluciones acuosas, lociones o suspensiones. (véase, *por ejemplo*, Hardman *et al.*, Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, N.Y., 2001; Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, N.Y., 2000; Avis, *et al.* (eds.), Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY, 1993; Lieberman, *et al.* (eds.), Pharmaceutical Dosage Forms: tablets, Marcel Dekker, NY, 1990; Lieberman, *et al.* (eds.) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY, 1990; Weiner and Kotkoskie, Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 2000).

[00433] La selección de un régimen de administración para una terapéutica depende de varios factores, que incluyen la tasa de recambio sérico o tisular de la entidad, el nivel de los síntomas, la inmunogenicidad de la entidad y la accesibilidad de las células diana en la matriz biológica. En ciertas formas de realización, un régimen de administración maximiza la cantidad de terapéutica administrada al paciente consistente con un nivel aceptable de efectos secundarios. En consecuencia, la cantidad de entrega biológica depende en parte de la entidad en particular y la gravedad de la afección a tratar. Se encuentra disponible una guía para

seleccionar las dosis apropiadas de anticuerpos, citocinas y moléculas pequeñas (véase, *por ejemplo*, Wawrzynczak, *Antibody Therapy*, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK, 1996; Kresina (ed.), *Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis*, Marcel Dekker, New York, N.Y., 1991; Bach (ed.), *Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases*, Marcel Dekker, New York, N.Y., 1993; Baert *et al.*, *New Engl. J. Med.* 348:601-608, 2003; Milgrom *et al.*, *New Engl. J. Med.* 341:1966-1973, 1999; Slamon *et al.*, *New Engl. J. Med.* 344:783-792, 2001; Beniaminovitz *et al.*, *New Engl. J. Med.* 342:613-619, 2000; Ghosh *et al.*, *New Engl. J. Med.* 348:24-32, 2003; Lipsky *et al.*, *New Engl. J. Med.* 343:1594-1602, 2000).

[00434] El médico realiza la determinación de la dosis apropiada, por ejemplo, aplicando parámetros o factores conocidos o presumidos en la técnica que afectan el tratamiento o la prevención o que se considera de antemano afectarán el tratamiento o la prevención. En general, la dosis comienza con una cantidad algo menor que la dosis óptima y luego se incrementa en pequeños incrementos hasta que se logra el efecto deseado u óptimo en relación con cualquier efecto secundario negativo. Las medidas de diagnóstico importantes incluyen aquellas de los síntomas de, por ejemplo, la inflamación o el nivel de citocinas inflamatorias producidas.

[00435] Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden variarse para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición y modo de administración particulares, sin ser tóxico para el paciente. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores farmacocinéticos que incluyen la actividad de las composiciones específicas de la presente invención empleadas, o el éster, sal o amida de las mismas, la ruta de administración, el tiempo de administración, la velocidad de excreción de compuesto particular empleado, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales utilizados en combinación con las composiciones específicas empleadas, la edad, el sexo, el peso, la condición, la salud general y el historial médico previo del paciente que se está tratando, y factores similares conocidos en las artes médicas.

[00436] Las composiciones que comprenden anticuerpos o fragmentos de los mismos de la invención pueden proporcionarse por infusión continua, o por dosis a intervalos de, por ejemplo, un día, una semana, o 1-7 veces por 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 o una vez cada ocho semanas. Las dosis pueden

administrarse por vía intravenosa, subcutánea, tópica, oral, nasal, rectal, intramuscular, intracerebral o por inhalación. Un protocolo de dosis específico es aquel que contempla la dosis o frecuencia de dosis máxima que evita efectos secundarios indeseables significativos.

[00437] Para los inmunoconjugados de la invención, la dosis administrada a un paciente puede oscilar entre 0,0001 mg/kg y 100 mg/kg de peso corporal del paciente. La dosis puede oscilar entre 0,0001 mg/kg y 30 mg/kg, 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 y 0,25 mg/kg, 0,0001 y 0,15 mg/kg, 0,0001 y 0,10 mg/kg, 0,001 y 0,5 mg/kg, 0,01 y 0,25 mg/kg o 0,01 y 0,10 mg/kg de peso corporal del paciente. La dosis de los anticuerpos o fragmentos de los mismos de la invención puede calcularse usando el peso del paciente en kilogramos (kg) multiplicado por la dosis a administrar en mg/kg.

[00438] Las dosis de los inmunoconjugados de la invención pueden repetirse y las administraciones pueden estar separadas por menos de 1 día, al menos 1 día, 2 días, 3 días, 5 días, 10 días, 15 días, 30 días, 45 días, 2 meses, 75 días, 3 meses, 4 meses, 5 meses o al menos 6 meses. En algunas formas de realización, los inmunoconjugados de la invención pueden administrarse dos veces por semana, una vez por semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, una vez cada cuatro semanas o con menos frecuencia. En una forma de realización específica, las dosis de los inmunoconjugados de la invención se repiten cada 2 semanas.

[00439] Una cantidad efectiva para un paciente en particular puede variar según factores como la afección a tratar, la salud general del paciente, el método, la vía y la dosis de administración y la gravedad de los efectos secundarios. (*véase, por ejemplo*, Maynard *et al.*, A Handbook of SOPs for Good Clinical Practice, Interpharm Press, Boca Raton, Fla., 1996; Dent, Good Laboratory and Good Clinical Practice, Urch Publ., London, UK, 2001).

[00440] La vía de administración puede ser, por ejemplo, aplicación tópica o cutánea, inyección o infusión por vía subcutánea, intravenosa, intraperitoneal, intracerebral, intramuscular, intraocular, intraarterial, intracerebrospinal, intralesional o mediante sistemas de liberación sostenida o un implante (*véase, por ejemplo*, Sidman *et al.*, Biopolymers 22:547-556, 1983; Langer *et al.*, J. Biomed. Mater. Res. 15:167-277, 1981; Langer, Chem. Tech. 12:98-105, 1982; Epstein *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688-3692, 1985; Hwang *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030-4034, 1980; Patentes Estadounidenses Nros. 6,350,466 y 6,316,024). Cuando sea necesario, la composición también puede incluir un agente solubilizante o un

anestésico local tal como lidocaína para aliviar el dolor en el sitio de la inyección, o ambos. Además, la administración pulmonar también puede emplearse, por ejemplo, mediante el uso de un inhalador o nebulizador, y la formulación con un agente de aerosolización. Véase, *por ejemplo*, las Patentes Estadounidenses Nros. 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 las Publicaciones por el PCT Nros. WO 92/19244, WO 97/32572, WO 97/44013, WO 98/31346, y WO 99/66903, cada una de las cuales se incorpora por completo a la presente como referencia.

[00441] Una composición de la presente invención también se puede administrar a través de una o más vías de administración usando uno o más de una variedad de métodos conocidos en la técnica. Como lo advertirá el experto en el arte, la vía y/o el modo de administración variarán dependiendo de los resultados deseados. Las vías de administración seleccionadas para los inmunoconjugados de la invención incluyen las vías de administración intravenosa, intramuscular, intradérmica, intraperitoneal, subcutánea, espinal u otras vías parenterales, por ejemplo, por inyección o infusión. La administración parenteral puede representar modos de administración distintos de la administración enteral y tópica, generalmente mediante inyección, e incluye, sin limitación, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, epidural e intraesternal. Alternativamente, una composición de la invención se puede administrar a través de una ruta no parenteral, como una vía de administración tópica, epidérmica o mucosa, por ejemplo, intranasal, oral, vaginal, rectal, sublingual o tópica. En una forma de realización, los inmunoconjugados de la invención se administran por infusión. En otra forma de realización, los inmunoconjugados de la invención se administran por vía subcutánea.

[00442] Si los inmunoconjugados de la invención 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, CRC Crit. Rev. Biomed. Eng. 14:20, 1987; Buchwald *et al.*, Surgery 88:507, 1980; Saudek *et al.*, N. Engl. J. Med. 321:574, 1989). Se pueden utilizar materiales poliméricos para lograr la liberación controlada o sostenida de las terapias de la invención (véase, *por ejemplo*, Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla., 1974; Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York, 1984; Ranger and Peppas, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61, 1983; véase

además Levy *et al.*, Science 228:190, 1985; During *et al.*, Ann. Neurol. 25:351, 1989; Howard *et al.*, J. Neurosurg. 71:105, 1989; Patente Estadounidense Nro. 5,679,377; Patente Estadounidense Nro. 5,916,597; Patente Estadounidense Nro. 5,912,015; Patente Estadounidense Nro. 5,989,463; Patente Estadounidense Nro. 5,128,326; Publicación por el PCT Nro. WO 99/15154; y Publicación por el PCT Nro. WO 99/20253. Los ejemplos de polímeros usados en las formulaciones de liberación sostenida incluyen, pero no se limitan a, poli(2-hidroxi etil metacrilato), poli(metil metacrilato), ácido (poli)acrílico, poli(etilen-co-vinil acetato), ácido (poli) metacrílico, poliglicólidos (PLG), polianhídridos, poli (N-vinil pirrolidona), alcohol poli (vinílico), poliacrilamida, poli (etilenglicol), polilactidas (PLA), poli (lactida-co-glicólidos) (PLGA) y polioctoésteres. En una forma de realización, el polímero utilizado en una formulación de liberación sostenida es inerte, libre de impurezas lixiviables, estable en almacenamiento, estéril y biodegradable. Se puede disponer un sistema de liberación controlada o sostenida cerca del objetivo profiláctico o terapéutico, lo que requiere solo una fracción de la dosis sistémica (véase, *por ejemplo*, Goodson, en Medical Applications of Controlled Release, *supra*, vol. 2, pp. 115-138, 1984).

[00443] Los sistemas de liberación controlada están analizados en la revisión de Langer, Science 249:1527-1533, 1990). Cualquier técnica conocida por el experto en la técnica puede usarse para producir formulaciones de liberación sostenida que comprenden uno o más inmunoconjugados de la invención. Véase, *por ejemplo*, Patente Estadounidense Nro. 4,526,938, Publicación por el PCT WO 91/05548, Publicación por el PCT WO 96/20698, Ning *et al.*, Radiotherapy & Oncology 39:179-189, 1996; Song *et al.*, PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology 50:372-397, 1995; Cleek *et al.*, Pro. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 24:853-854, 1997; y Lam *et al.*, Proc. Int'l. Symp. Control Rel. Bioact. Mater. 24:759-760, 1997, cada uno de los cuales queda incorporado por completo a la presente como referencia.

[00444] En caso que los inmunoconjugados de la invención sean administrados tópicamente, se pueden formular en forma de una pomada, crema, parche transdérmico, loción, gel, spray, aerosol, solución, emulsión u otra forma conocida por el experto en la técnica. Véase, *por ejemplo*, Remington's Pharmaceutical Sciences and Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 19th ed., Mack Pub. Co., Easton, Pa. (1995). Para las formas de dosificación tópica no pulverizables, se emplean típicamente formas viscosas a semisólidas o sólidas que comprenden un portador 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, pomadas,

polvos, linimentos, ungüentos y similares, que, si se desea, se esterilizan o mezclan con agentes auxiliares (por ejemplo, conservantes, estabilizadores, agentes humectantes, tampones o sales) para influir en diversas propiedades, como, por ejemplo, la presión osmótica. Otras formas de dosificación tópica adecuadas incluyen preparaciones de 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, como el freón) o en una botella comprimible. También se pueden agregar humidificantes o humectantes a las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación si se desea. Los ejemplos de tales ingredientes adicionales son bien conocidos en la técnica.

[00445] Si las composiciones que comprenden los inmunoconjugados se administran por vía intranasal, se pueden formular en forma de aerosol, spray, neblina o en forma de gotas. En particular, los agentes profilácticos o terapéuticos para su uso de acuerdo con la presente invención pueden administrarse convenientemente bajo una forma de presentación en aerosol en envases presurizados o mediante un nebulizador, con el uso de un propelente adecuado (por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado). En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación se puede determinar proporcionando una válvula para administrar una cantidad medida. Las cápsulas y cartuchos (compuestas, por ejemplo, de gelatina) para uso en un inhalador o insuflador pueden formularse con una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

[00446] Los métodos para la administración conjunta o el tratamiento con un segundo agente terapéutico, por ejemplo, una citocina, esteroide, agente quimioterapéutico, antibiótico o radiación, son conocidos en la técnica. (véase, *por ejemplo*, Hardman *et al.*, (eds.) (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed., McGraw-Hill, New York, N.Y.; Poole and Peterson (eds.) (2001) Pharmacotherapeutics for Advanced Practice: A Practical Approach, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., Pa.; Chabner and Longo (eds.) (2001) Cancer Chemotherapy and Biotherapy, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., Pa.). Una cantidad efectiva de terapéutica puede disminuir los síntomas en al menos un 10%; en al menos un 20%; al menos aproximadamente 30%; al menos 40% o al menos 50%.

[00447] Las terapias adicionales (por ejemplo, agentes profilácticos o terapéuticos), que pueden administrarse en combinación con los inmunoconjugados de la invención, pueden administrarse con menos de 5 minutos de diferencia, menos de 30 minutos de diferencia, 1 hora de diferencia, aproximadamente 1 hora de diferencia, con aproximadamente 1 a

aproximadamente 2 horas de diferencia, con aproximadamente 2 horas a aproximadamente 3 horas de diferencia, con aproximadamente 3 horas a aproximadamente 4 horas de diferencia, con aproximadamente 4 horas a aproximadamente 5 horas de diferencia, con aproximadamente 5 horas a aproximadamente 6 horas de diferencia, con aproximadamente 6 horas a aproximadamente 7 horas de diferencia, con aproximadamente 7 horas a aproximadamente 8 horas de diferencia, con aproximadamente 8 horas a aproximadamente 9 horas de diferencia, con aproximadamente 9 horas a aproximadamente 10 horas de diferencia, con aproximadamente 10 horas a aproximadamente 11 horas de diferencia, con aproximadamente 11 horas a aproximadamente 12 horas de diferencia, con aproximadamente 12 horas a 18 horas de diferencia, 18 horas a 24 horas de diferencia, 24 horas a 36 horas de diferencia, 36 horas a 48 horas de diferencia, 48 horas a 52 horas de diferencia, 52 horas a 60 horas de diferencia, 60 horas a 72 horas de diferencia, 72 horas a 84 horas de diferencia, 84 horas a 96 horas de diferencia, o 96 horas a 120 horas de diferencia respecto de los inmunoconjugados de la invención. Las dos o más terapias pueden administrarse dentro de una misma visita del paciente.

[00448] En ciertas formas de realización, los inmunoconjugados de la invención pueden formularse para garantizar una distribución adecuada in vivo. Por ejemplo, la barrera hematoencefálica (BBB) excluye muchos compuestos altamente hidrófilos. Para garantizar que los compuestos terapéuticos de la invención crucen la BBB (si se desea), pueden formularse, por ejemplo, en liposomas. En cuanto a los métodos de preparación de liposomas, véanse, *por ejemplo*, Patentes Estadounidenses Nros. 4,522,811; 5,374,548; y 5,399,331. Los liposomas pueden comprender uno o más restos que se transportan selectivamente a células u órganos específicos, mejorando así la administración dirigida del fármaco. (véase, *por ejemplo*, Ranade, (1989) J. Clin. Pharmacol. 29:685). Los ejemplos de restos de direccionamiento incluyen folato o biotina (véase, *por ejemplo*, Patente Estadounidense Nro. 5,416,016 a Low *et al.*); manósidos (Umezawa *et al.*, (1988) Biochem. Biophys. Res. Commun. 153:1038); anticuerpos (Bloeman *et al.*, (1995) FEBS Lett. 357:140; Owais *et al.*, (1995) Antimicrob. Agents Chemother. 39:180); receptor de proteína A tensioactivo (Briscoe *et al.*, (1995) Am. J. Physiol. 1233:134); p 120 (Schreier *et al.*, (1994) J. Biol. Chem. 269:9090); véase además K. Keinänen; M. L. Laukkanen (1994) FEBS Lett. 346:123; J. J. Killian; I. J. Fidler (1994) Immunomethods 4:273.

[00449] La invención provee protocolos para la administración de la composición farmacéutica que comprende los inmunoconjugados de la invención solos o en combinación con otras terapias a un sujeto que lo necesite. Las terapias (por ejemplo, agentes profilácticos o

terapéuticos) de las terapias combinadas de la presente invención pueden administrarse de forma concomitante o secuencial a un sujeto. La terapia (por ejemplo, agentes profilácticos o terapéuticos) de las terapias combinadas de la presente invención también se puede administrar cíclicamente. La terapia cíclica implica la administración de una primera terapia (por ejemplo, un primer agente profiláctico o terapéutico) durante un período de tiempo, seguida de la administración de una segunda terapia (por ejemplo, un segundo agente profiláctico o terapéutico) durante un período de tiempo y repetir esta administración secuencial, es decir, el ciclo, con el fin de reducir el desarrollo de resistencia a una de las terapias (por ejemplo, agentes) evitar o reducir los efectos secundarios de una de las terapias (por ejemplo, agentes), y/o mejorar la eficacia de las terapias.

[00450] Las terapias (por ejemplo, agentes profilácticos o terapéuticos) de las terapias de combinación de la invención pueden administrarse a un sujeto simultáneamente.

[00451] El término "concurrentemente" no se limita a la administración de terapias (por ejemplo, agentes profilácticos o terapéuticos) exactamente al mismo tiempo, sino que significa que una composición farmacéutica que comprende anticuerpos o fragmentos de la invención se administra a un sujeto siguiendo una secuencia y dentro de un intervalo de tiempo tal que los conjugados de anticuerpo fármaco de la invención puedan actuar junto con la o las otras terapias con el fin de proporcionar un beneficio mayor que si se administraran de otra manera. Por ejemplo, cada terapia puede administrarse a un sujeto al mismo tiempo o secuencialmente en cualquier orden en diferentes momentos; sin embargo, si no se administran al mismo tiempo, deben administrarse lo suficientemente cerca en el tiempo para proporcionar el efecto terapéutico o profiláctico deseado. Cada terapia puede administrarse a un sujeto por separado, en cualquier forma apropiada y por cualquier vía adecuada. En diversas formas de realización, las terapias (por ejemplo, agentes profilácticos o terapéuticos) se administran a un sujeto con menos de 5 minutos de diferencia, menos de 15 minutos de diferencia, menos de 30 minutos de diferencia, menos de 1 hora de diferencia, con aproximadamente 1 hora de diferencia, con aproximadamente 1 hora a aproximadamente 2 horas de diferencia, con aproximadamente 2 horas a aproximadamente 3 horas de diferencia, con aproximadamente 3 horas a aproximadamente 4 horas de diferencia, con aproximadamente 4 horas a aproximadamente 5 horas de diferencia, con aproximadamente 5 horas a aproximadamente 6 horas de diferencia, con aproximadamente 6 horas a aproximadamente 7 horas de diferencia, con aproximadamente 7 horas a aproximadamente 8 horas de diferencia, con aproximadamente 8 horas a aproximadamente 9 horas de diferencia, con aproximadamente 9 horas a

aproximadamente 10 horas de diferencia, con aproximadamente 10 horas a aproximadamente 11 horas de diferencia, con aproximadamente 11 horas a aproximadamente 12 horas de diferencia, 24 horas de diferencia, 48 horas de diferencia, 72 horas de diferencia, o 1 semana de diferencia. En otras formas de realización, dos o más terapias (por ejemplo, agentes profilácticos o terapéuticos) se administran en una misma visita del paciente.

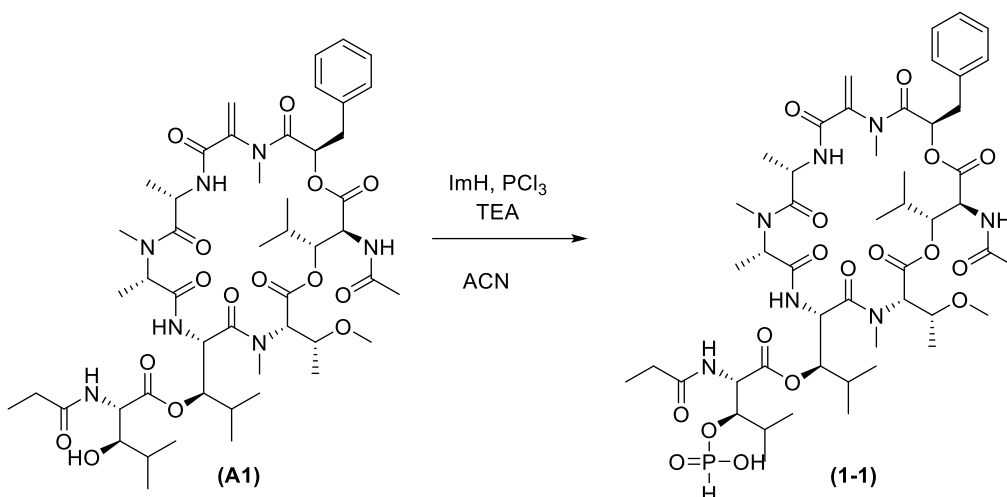
[00452] Los agentes profilácticos o terapéuticos de las terapias combinadas pueden administrarse a un sujeto en la misma composición farmacéutica. Alternativamente, los agentes profilácticos o terapéuticos de las terapias combinadas pueden administrarse simultáneamente a un sujeto en composiciones farmacéuticas separadas. Los agentes profilácticos o terapéuticos pueden administrarse a un sujeto por las mismas o diferentes vías de administración. Los agentes profilácticos o terapéuticos de las terapias combinadas pueden administrarse a un sujeto en la misma composición farmacéutica. Alternativamente, los agentes profilácticos o terapéuticos de las terapias combinadas pueden administrarse simultáneamente a un sujeto en composiciones farmacéuticas separadas. Los agentes profilácticos o terapéuticos pueden administrarse a un sujeto por las mismas o diferentes vías de administración.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Síntesis de Ejemplos de Compuestos Enlazador-Fármaco

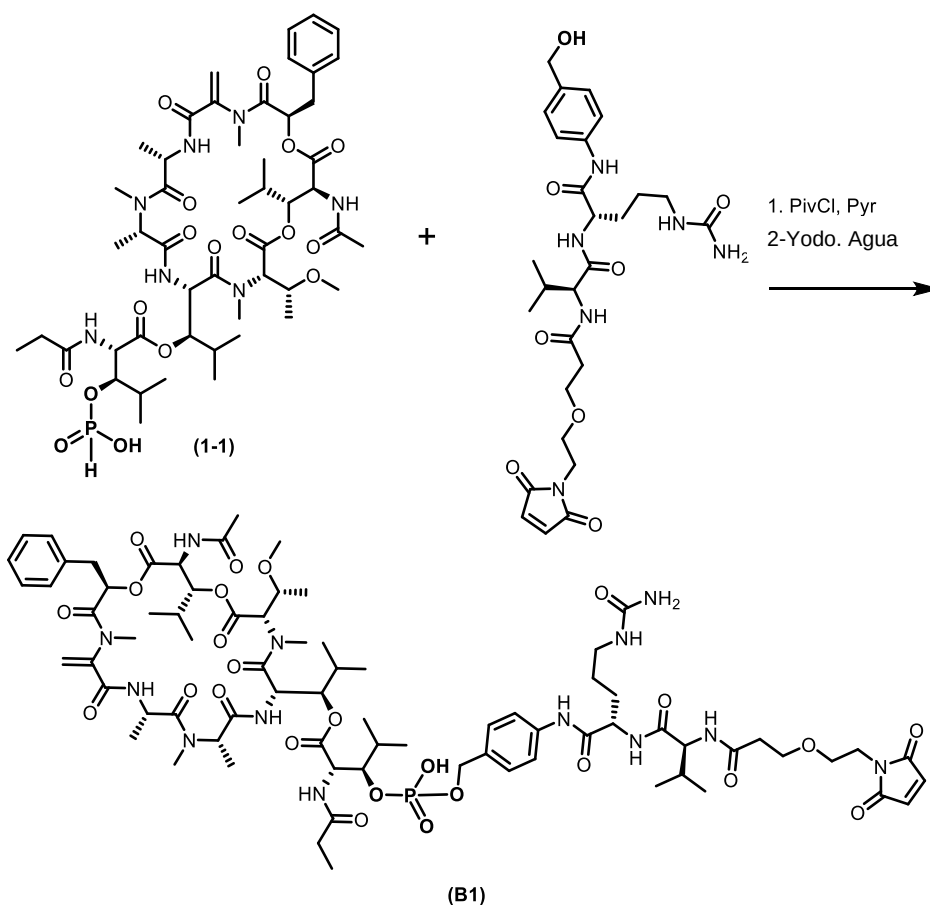
Ejemplo 1-1: Síntesis de (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-22-isopropil-3-((R)-1-metoxietil) -4,9,10,12,16-pentametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoxo-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il) -2-metilpropil (2S,3R)-3-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) etoxi)propanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)bencil) oxi)(hidroxi)fosforil) oxi)-4-metil-2-propionamidopentanoato (**B1**)

Paso 1: Síntesis de (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-22-isopropil-3-((R)-1-metoxietil) -4,9,10,12,16-pentametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoxo-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il) -2-metilpropil (2S,3R)-3-((hidroxihidrofosforil) oxi)-4-metil-2-propionamidopentanoato (1-1):



[00453] Se disolvió imidazol (102 mg, 1,49 mmol, 15 equiv.) en acetonitrilo (ACN) (1,4 mL) y se enfrió en un baño de hielo (se observa la precipitación de ImH y la mezcla se levantó del baño de hielo para solubilizar ImH aún en frío). Luego, se agregó tricloruro de fósforo (1.0 M en ACN) (499 µl, 0,499 mmol, 5 equiv.) por goteo (lo cual dio como resultado una suspensión blanca) y la mezcla fue agitada durante 10 min. Luego se agregó trietilamina (250 µl, 1,796 mmol, 18 equiv.) y la mezcla se agitó durante 40 min luego de lo cual se agregó (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-22-isopropil-3-((R)-1-metoxietil) -4,9,10,12,16-pentametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoxo-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il) -2-metilpropil (2S,3R)-3-hidroxi-4-metil-2-propionamidopentanoato **(A1)** (100 mg, 0,100 mmol, 1,0 equiv., compuesto (A1) usando el método descrito en el Ejemplo 3-1) en ACN (1,7 mL). La mezcla heterogénea anaranjada amarillenta se entibió a temperatura ambiente y se agitó durante un total de 60 minutos. La mezcla fue tratada con agua (0,2 mL) y el material purificado por cromatografía instantánea en fase inversa (0-100% ACN/Agua, Columna 18 40 gramos, fase móvil neutra) y las fracciones de producto fueron recogidas y liofilizadas para obtener el H-fosfonato **(1-1)** como un polvo blanco amarillento amorfo. LCMS: MH⁺ = 1066,3, 0,78 min (Columna Acquity UPLC BEH C18 1,7µm, 2-98% 2min corrida con Agua/MeCN +0,1% NH₄OH, método básico).

Paso 2: Síntesis de (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-22-isopropil-3-((R)-1-metoxietil) -4,9,10,12,16-pentametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoxo-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il) -2-metilpropil (2S,3R)-3-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) etoxi)propanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)bencil) oxi)(hidroxi)fosforil) oxi)-4-metil-2-propionamidopentanoato (B1):

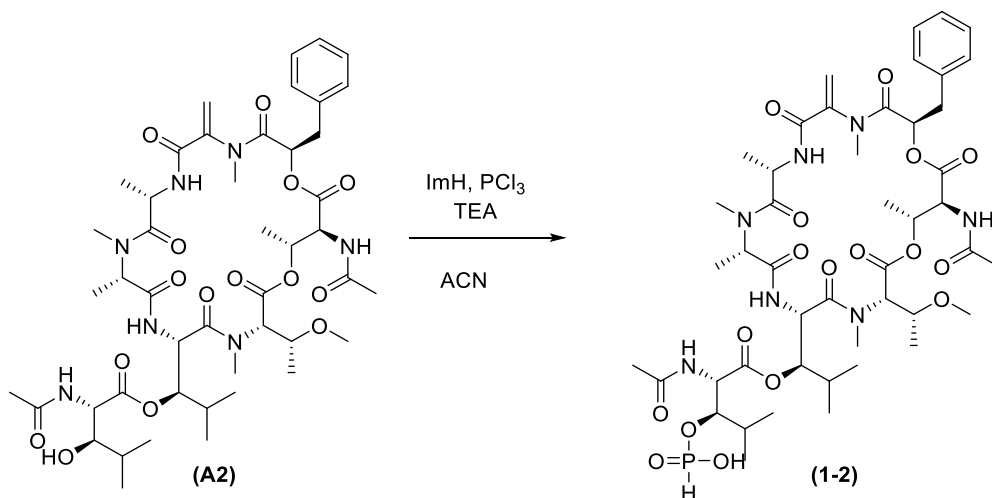


[00454] (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-22-isopropil-3-((R)-1-metoxietil) -4,9,10,12,16-pentametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoxo-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il) -2-metilpropil (2S,3R)-3-((hidroxihidrofosforil) oxi)-4-metil-2-propionamidopentanoato **(1-1)** (100 mg, 0,094 mmol, 1,0 equiv.) y (S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) etoxi)propanamido)-3-metilbutanamido)-N-(4-(hidroximetil)fenil)-5-ureidopentanamida (108 mg, 0,188 mmol, 2,0 equiv., CAS# es 2055041-37-5) (ambos polvos liofilizados fueron transferidos a un vial de 10 mL) y disueltos en piridina (4 mL). Luego, se agregó cloruro de pivaloilo (0,058 mL, 0,469 mmol, 5 equiv.) por goteo para obtener una solución amarillo claro. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 10 minutos y luego se agregaron 1,0 equiv. más de cloruro de pivaloilo. Una solución de yodo recién preparada (47,6 mg, 0,188 mmol, 2,0 equiv.) en piridina-agua (14:1, 750 uL) fue agregada para obtener una solución clara de color marrón oscuro. La mezcla fue agitada durante 25 minutos y purificada directamente por cromatografía instantánea de fase inversa (columna C18 40 g, 0%Ac/MeCN 3 minutos, luego 0-60% ACN/Agua durante 15 minutos, método neutro) para obtener (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-22-isopropil-3-((R)-1-metoxietil) -4,9,10,12,16-pentametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoxo-

1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il) -2-metilpropil (2S,3R)-3-((((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) etoxi)propanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)bencil) oxi)(hidroxi)fosforil) oxi)-4-metil-2-propionamidopentanoato (**B-1**).
HRMS; MH⁺ = 1638,7700, 2.84 min.

Ejemplo 1-2: Síntesis de (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-3-((R)-1-metoxietil) -4,9,10,12,16,22-hexametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoso-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il) -2-metilpropil (2S,3R)-2-acetamido-3-((((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) etoxi)propanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)bencil) oxi)(hidroxi)fosforil) oxi)-4-metilpentanoato (**B2**)

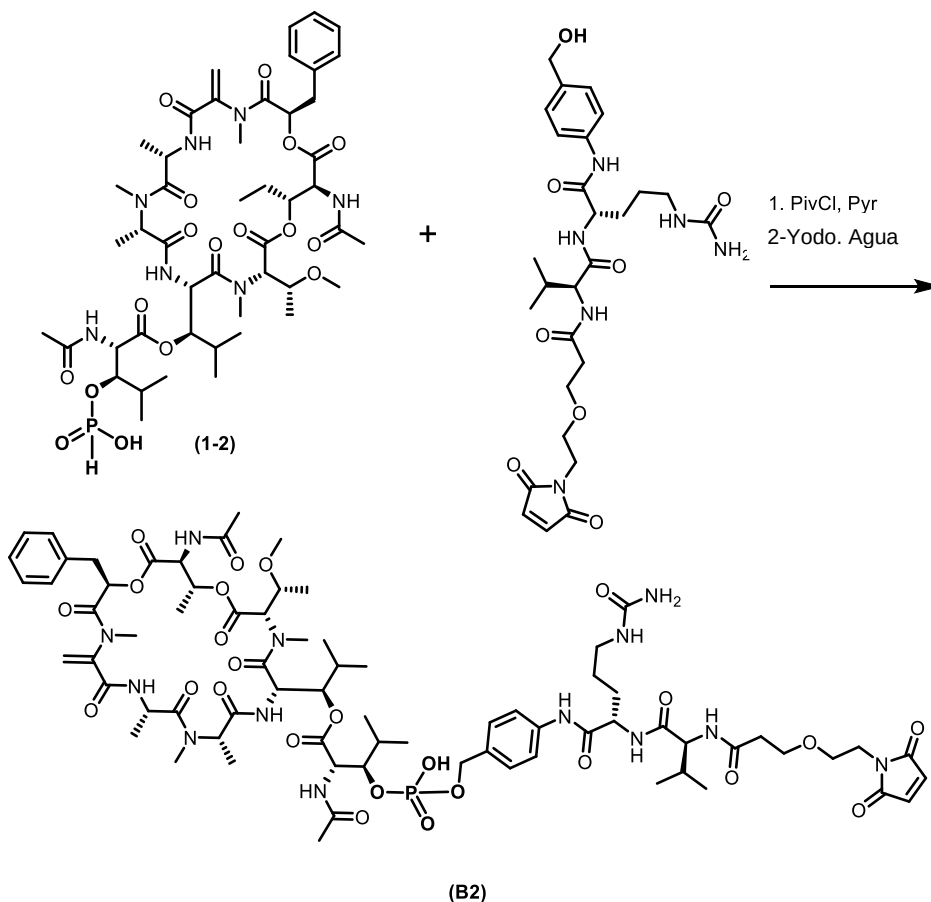
Paso 1: Síntesis de (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-3-((R)-1-metoxietil) -4,9,10,12,16,22-hexametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoso-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il) -2-metilpropil (2S,3R)-2-acetamido-3-((hidroxihidrofosforil) oxi)-4-metilpentanoato (1-2):



[00455] Se disolvió imidazol (85 mg, 1,25 mmol, 15 equiv.) en acetonitrilo (ACN) (2,5 mL) y se enfrió en un baño de hielo (se observa la precipitación de ImH y la mezcla se levantó del baño de hielo para solubilizar ImH aún en frío). Luego, se agregó tricloruro de fósforo (36,4 µl disuelto en 0,5 mL MeCN, 0,417 mmol, 5 equiv.) por goteo (lo cual dio como resultado una suspensión blanca) y la mezcla fue agitada durante 10 min. Luego se agregó trietilamina (174 µl, 1,25 mmol, 15 equiv.) y la mezcla se agitó durante 40 min luego de lo cual se agregó (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-3-((R)-1-metoxietil) -4,9,10,12,16,22-hexametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoso-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-

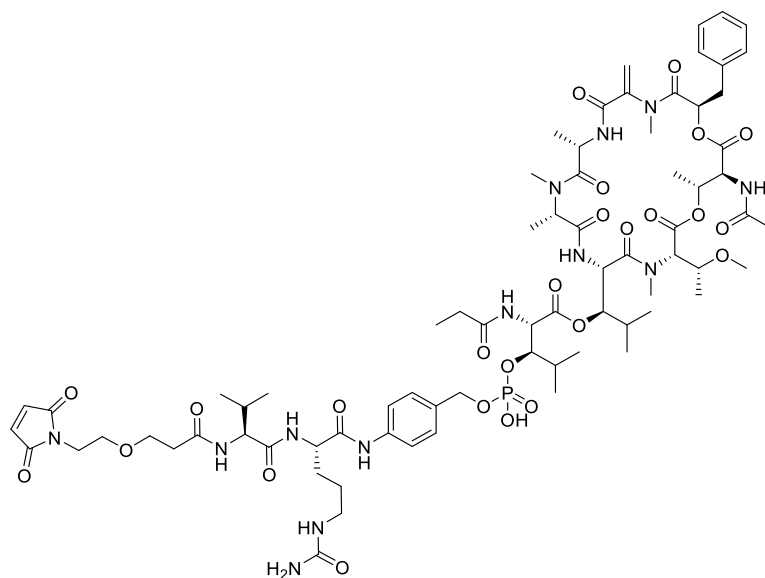
pentaazaciclodocosan-6-il) -2-metilpropil (2S,3R)-2-acetamido-3-hidroxi-4-metilpentanoato (**A2**) (80 mg, 0,084 mmol, 1,0 equiv., compuesto (**A2**) usando el método descrito en el Ejemplo 3-2) en ACN (1,7 mL). La mezcla heterogénea anaranjada amarillenta se entibió a temperatura ambiente y se agitó durante un total de 30 minutos. La mezcla fue tratada con agua (1 mL) y el material purificado por cromatografía instantánea en fase inversa (0-100% ACN/Agua, Columna 18 40 gramos, fase móvil neutra) y las fracciones de producto fueron recogidas y liofilizadas para obtener el H-fosfonato (**1-2**) como un polvo blanco amarillento amorfo. LCMS: MH⁺ = 1024,3, 0,78 min (Columna Acquity UPLC BEH C18 1,7µm, 2-98% 2min corrida con Agua/MeCN +0,1% NH₄OH, método básico).

Paso 2: Síntesis de (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-3-((R)-1-metoxietil) -4,9,10,12,16,22-hexametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoxo-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il) -2-metilpropil (2S,3R)-2-acetamido-3-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) etoxi)propanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)bencil) oxi)(hidroxi)fosforil) oxi)-4-metilpentanoato:



[00456] (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-3-((R)-1-metoxietil)-4,9,10,12,16,22-hexametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoxo-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il) -2-metilpropil (2S,3R)-2-acetamido-3-((hidroxihidrofosforil) oxi)-4-metilpentanoato **(1-2)** (50 mg, 0,049 mmol, 1,0 equiv.) y (S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) etoxi)propanamido)-3-metilbutanamido)-N-(4-(hidroximetil)fenil)-5-ureidopentanamida (CAS# 2055041-37-5) (33,7 mg, 0,059 mmol, 1,2 equiv.) (ambos polvos liofilizados fueron transferidos a un vial de 10 mL) y disueltos en piridina (1 mL). Luego, se agregó cloruro de pivaloilo (0,042 mL, 0,342 mmol, 7 equiv.) por goteo para obtener una solución amarillo claro. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 30 minutos. Una solución de yodo recién preparada (49,6 mg, 0,195 mmol, 4 equiv.) en piridina-agua (20:1, 500 μ L) fue agregada para obtener una solución clara de color marrón oscuro. La mezcla fue agitada durante 30 minutos y purificada directamente por cromatografía instantánea de fase inversa (columna C18 40 g, 0%Ac/MeCN 3 minutos, luego 0-70% ACN/Agua durante 15 minutos, método neutro) para obtener (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-22-isopropil-3-((R)-1-metoxietil) -4,9,10,12,16-pentametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoxo-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il) -2-metilpropil (2S,3R)-3-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) etoxi)propanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)bencil) oxi)(hidroxi)fosforil) oxi)-4-metil-2-propionamidopentanoato **(B2)**. HRMS; MH⁺ = 1595.7200, 2,25 min.

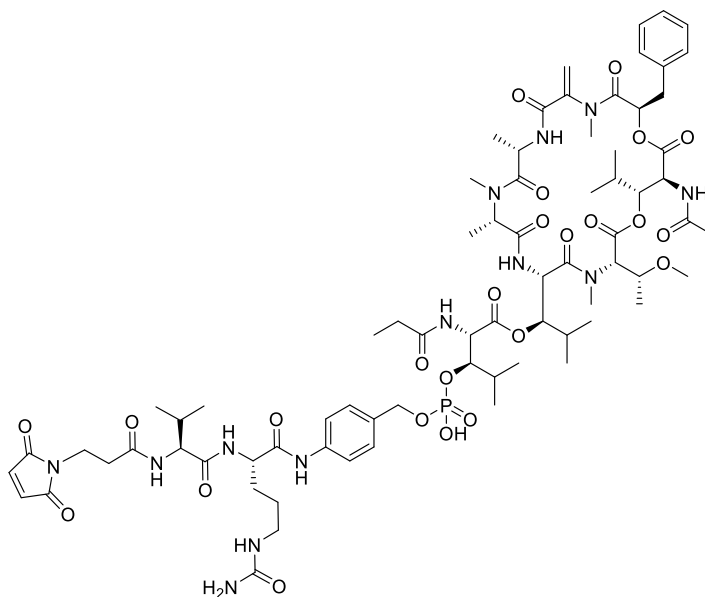
Ejemplo 1-3: Síntesis de (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-3-((R)-1-metoxietil) -4,9,10,12,16,22-hexametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoxo-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il) -2-metilpropil (2S,3R)-3-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) etoxi)propanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)bencil) oxi)(hidroxi)fosforil) oxi)-4-metil-2-propionamidopentanoato **(B3)**



(B3)

[00457] El Compuesto (B3) puede obtenerse usando procedimientos similares a los métodos descritos en el Ejemplo 1-1, con la excepción del paso 1 donde el compuesto (A3) (del Ejemplo 3-3) se usa en lugar del compuesto (A1).

Ejemplo 1-4: Síntesis de (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-22-isopropil-3-((R)-1-metoxietil)-4,9,10,12,16-pentametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoxo-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il)-2-metilpropil (2S,3R)-3-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) propanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)bencil) oxi)(hidroxi)fosforil) oxi)-4-metil-2-propionamidopentanoato **(B4)**

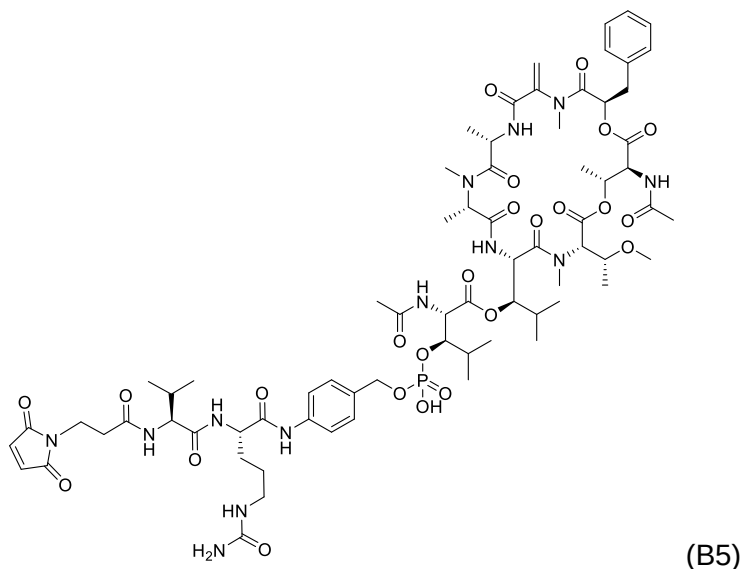


(B4)

[00458] El Compuesto (B4) se obtuvo usando procedimientos similares a los métodos descritos en el Ejemplo 1-1, con la excepción del paso 2 donde (S)-2-((S)-2-(3-(2,5-dioxo-2,5-

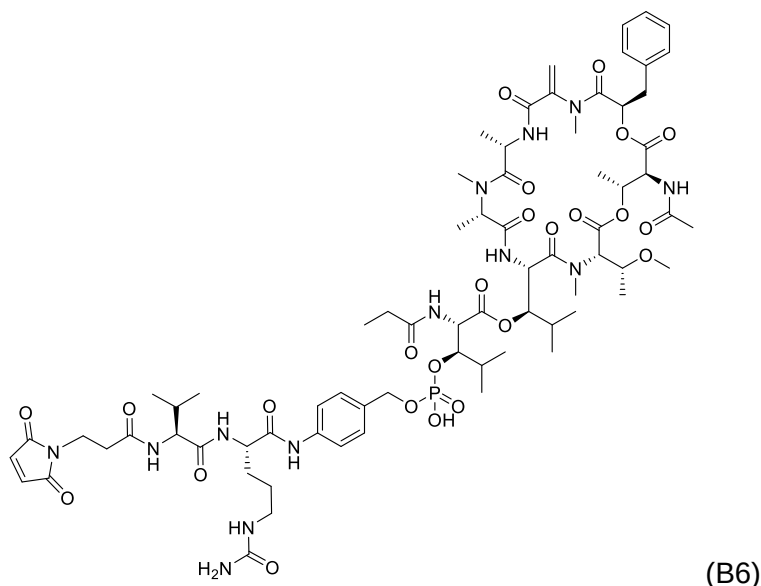
dihidro-1H-pirrol-1-il) propanamido)-3-metilbutanamido)-N-(4-(hidroximetil)fenil)-5-ureidopentanamida (CAS# 1949793-46-7) se usó en lugar de (S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) etoxi)propanamido)-3-metilbutanamido)-N-(4-(hidroximetil)fenil)-5-ureidopentanamida (CAS# es 2055041-37-5). HRMS; MH⁺ = 1594.5400, 2,88 min.

Ejemplo 1-5: Síntesis de (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-3-((R)-1-metoxietil)-4,9,10,12,16,22-hexametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoxo-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il)-2-metilpropil (2S,3R)-2-acetamido-3-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) propanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)bencil) oxi)(hidroxi)fosforil) oxi)-4-metilpentanoato (**B5**)



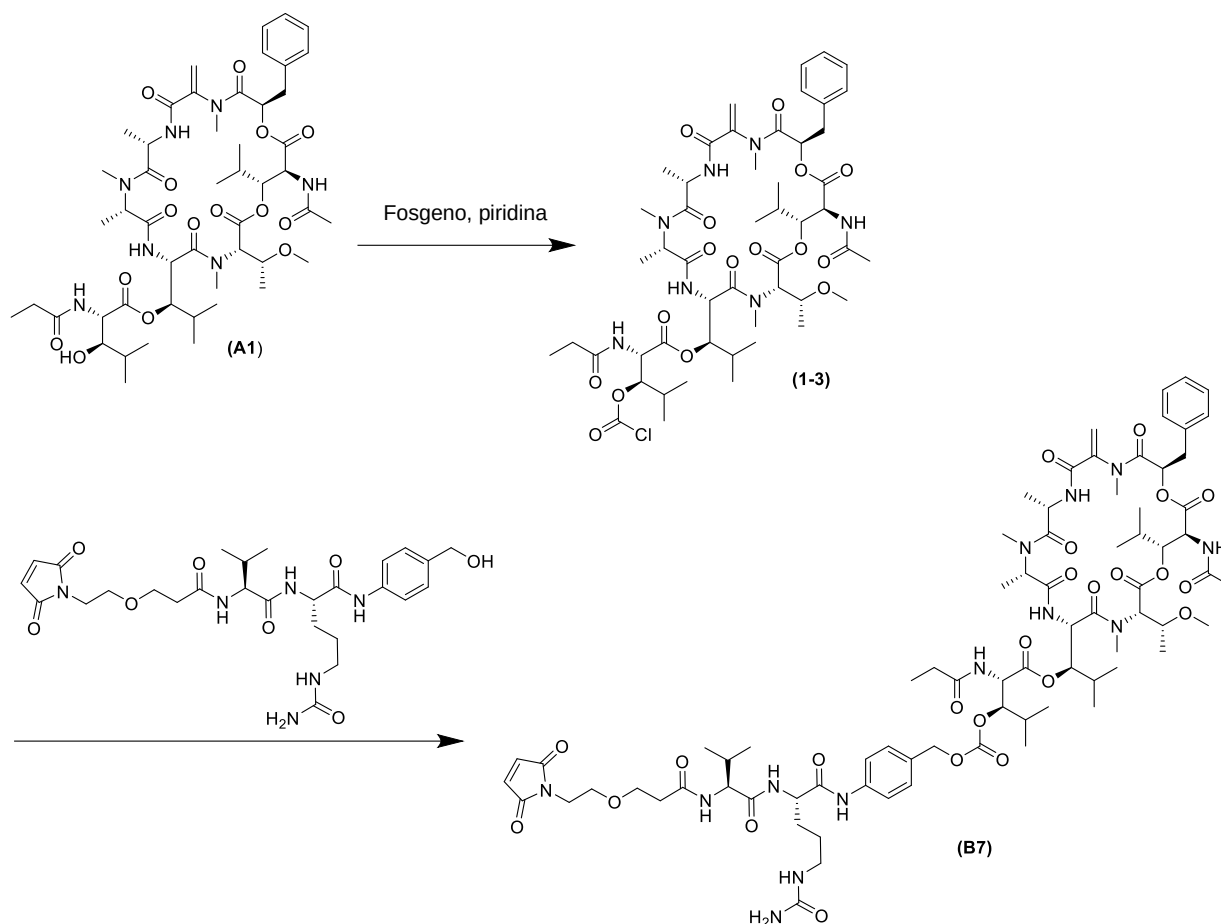
[00459] El Compuesto (B5) puede obtenerse usando procedimientos similares a los métodos descritos en el Ejemplo 1-1, con la excepción del paso 1 donde el compuesto (A2) (del Ejemplo 3-2) se usó en lugar de compuesto (A1), y el paso 2 donde (S)-2-((S)-2-(3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) propanamido)-3-metilbutanamido)-N-(4-(hidroximetil)fenil)-5-ureidopentanamida (CAS# 1949793-46-7) se usa en lugar de (S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) etoxi)propanamido)-3-metilbutanamido)-N-(4-(hidroximetil)fenil)-5-ureidopentanamida (CAS# es 2055041-37-5).

Ejemplo 1-6: Síntesis de (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-3-((R)-1-metoxietil)-4,9,10,12,16,22-hexametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoxo-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il)-2-metilpropil (2S,3R)-3-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) propanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)bencil) oxi)(hidroxi)fosforil) oxi)-4-metil-2-propionamidopentanoato (**B6**)



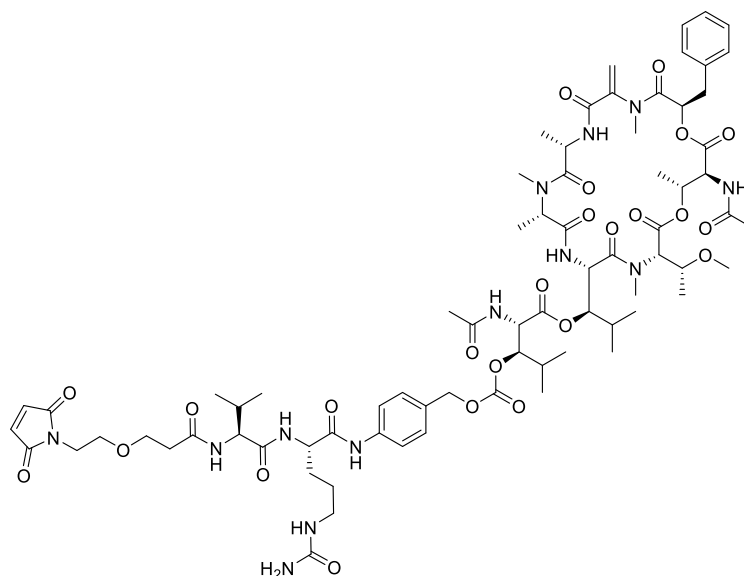
[00460] El Compuesto (B6) puede obtenerse usando procedimientos similares a los métodos descritos en el Ejemplo 1-1, con la excepción del paso 1 donde el compuesto (A3) (del Ejemplo 3-3) se usó en lugar de compuesto (A1), y el paso 2 donde (S)-2-((S)-2-(3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) propanamido)-3-metilbutanamido)-N-(4-(hidroximetil)fenil)-5-ureidopentanamida (CAS# 1949793-46-7) se usa en lugar de (S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) etoxi)propanamido)-3-metilbutanamido)-N-(4-(hidroximetil)fenil)-5-ureidopentanamida (CAS# es 2055041-37-5).

Ejemplo 1-7: Síntesis de (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-22-isopropil-3-((R)-1-metoxietil)-4,9,10,12,16-pentametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoxo-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il)-2-metilpropil (2S,3R)-3-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) etoxi)propanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)bencil) oxi)carbonil) oxi)-4-metil-2-propionamidopentanoato **(B7)**



[00461] El Compuesto (B7) puede obtenerse haciendo reaccionar cloroformato (1-3) con (S)-2-(((S)-2-(3-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) etoxi)propanamido)-3-metilbutanamido)-N-(4-(hidroximetil)fenil)-5-ureidopentanamida (CAS# es 2055041-37-5). El cloroformato (1-3) puede obtenerse haciendo reaccionar el Compuesto (A1) con fosgeno.

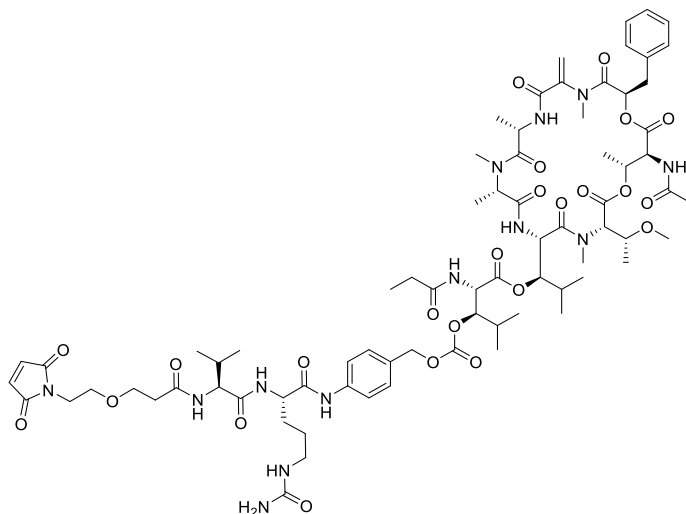
Ejemplo 1-8: Síntesis de (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-3-((R)-1-metoxietil)-4,9,10,12,16,22-hexametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaóxido-1,19-dioxo-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il)-2-metilpropil (2S,3R)-2-acetamido-3-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) etoxi)propanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)bencil) oxi)carbonil oxi)-4-metilpentanoato **(B8)**



(B8)

[00462] El Compuesto (B8) puede obtenerse usando el método descrito en el Ejemplo 1-7, con la excepción que el Compuesto (A2) se usa en lugar del Compuesto (A1).

Ejemplo 1-9: Síntesis de (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-3-((R)-1-metoxietil)-4,9,10,12,16,22-hexametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoxo-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il)-2-metilpropil (2S,3R)-3-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) etoxi)propanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)bencil) oxi)carbonil) oxi)-4-metil-2-propionamidopentanoato **(B9)**

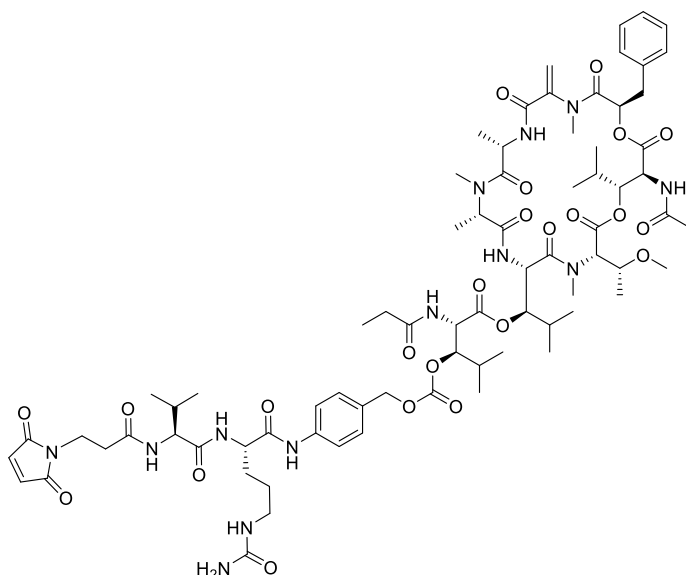


(B9)

[00463] El Compuesto (B9) puede obtenerse usando el método descrito en el Ejemplo 1-7, con la excepción que el Compuesto (A3) se usa en lugar del Compuesto (A1).

Ejemplo 1-10: Síntesis de (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-22-isopropil-3-((R)-1-metoxietil)-4,9,10,12,16-pentametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoxo-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il)-2-metilpropil (2S,3R)-3-(((4-((S)-2-((S)-2-

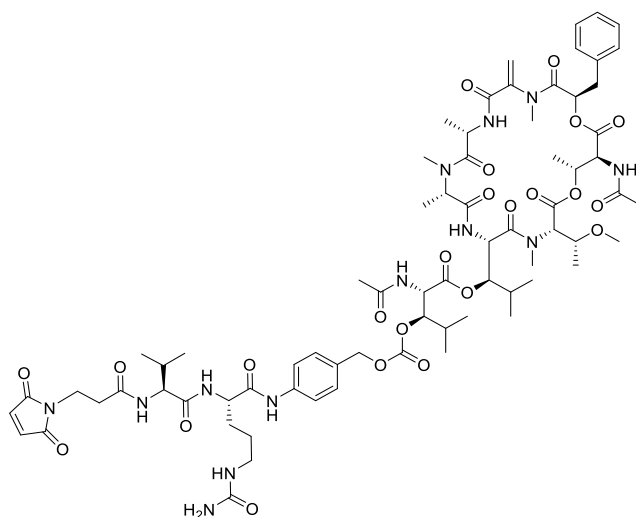
(3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) propanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)bencil) oxi)carbonil) oxi)-4-metil-2-propionamidopentanoato (**B10**)



(B10)

[00464] El Compuesto (B10) puede obtenerse usando el método descrito en el Ejemplo 1-7, con la excepción que (S)-2-((S)-2-(3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) propanamido)-3-metilbutanamido)-N-(4-(hidroximetil)fenil)-5-ureidopentanamida (CAS# 1949793-46-7) se usa en lugar de (S)-2-((S)-2-(3-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) etoxi)propanamido)-3-metilbutanamido)-N-(4-(hidroximetil)fenil)-5-ureidopentanamida (CAS# es 2055041-37-5).

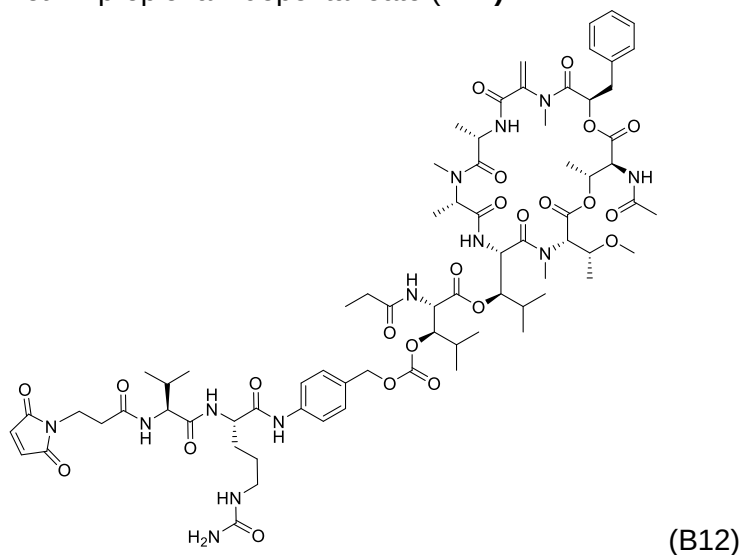
Ejemplo 1-11: Síntesis de (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-3-((R)-1-metoxietil) -4,9,10,12,16,22-hexametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoxo-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il) -2-metilpropil (2S,3R)-2-acetamido-3-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) propanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)bencil) oxi)carbonil) oxi)-4-metilpentanoato (**B11**)



(B11)

[00465] El Compuesto (B11) puede obtenerse usando el método descrito en el Ejemplo 1-10, con la excepción que el Compuesto (A2) se usa en lugar del Compuesto (A1).

Ejemplo 1-12: Síntesis de (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-3-((R)-1-metoxietil) -4,9,10,12,16,22-hexametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoso-1,19-dioxo-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il) -2-metilpropil (2S,3R)-3-(((4-((S)-2-((S)-2-(3-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il) propanamido)-3-metilbutanamido)-5-ureidopentanamido)bencil) oxi)carbonil) oxi)-4-metil-2-propionamidopentanoato (**B12**)



[00466] El Compuesto (B12) puede obtenerse usando el método descrito en el Ejemplo 1-10, con la excepción que el Compuesto (A3) se usa en lugar del Compuesto (A1).

Ejemplo 2: Generación de anticuerpos anti-PMEL17

Ejemplo 2-1: Preparación de líneas celulares que expresan PMEL17

[00467] Genes PMEL17 humano, de cinomolgo y rata de longitud completa se sintetizaron en base a secuencias de aminoácidos de las bases de datos GenBank o Uniprot. Todos los fragmentos de ADN sintetizados se clonaron en vectores de expresión apropiados.

[00468] Se generaron y se cultivaron líneas celulares estables que expresaban PMEL17 diseñadas bajo condiciones de selección apropiadas para producir líneas celulares que expresan PMEL17 estable.

Ejemplo 2-2: Paneo de células enteras contra PMEL17

[00469] Las bibliotecas de fagémidos se basan en los conceptos HuCAL PLATINUM® (Knappik et al., 2000) y Ylanthia (Tiller et al., 2013) y emplean la tecnología CysDisplay™ para mostrar el Fab en la superficie del fago (Lohning, 2001).

[00470] Para paneo, se bloquearon aproximadamente 4×10^{13} HuCAL PLATINUM® o aproximadamente 1×10^{14} Ylanthia® fago-anticuerpos en PBS/5% FCS. En paralelo, $0,5 - 1,0 \times 10^7$ células diana que expresan el antígeno PMEL17 y $0,5 - 1,0 \times 10^7$ células de adsorción sin expresión del antígeno PMEL17 por grupo de fagos se resuspendieron en 1 ml PBS/5% FCS para bloquear en hielo. Las células objetivo bloqueadas se centrifugaron, se resuspendieron en las partículas de fago prebloqueadas y se incubaron durante 2 h a 4°C en un rotador. Los complejos de fagos-células se lavaron tres veces en PBS/FCS al 5%. La elución del fago específicamente unido de las células diana se realizó mediante elución ácida de 10 minutos con glicina 0,1 M-HCl/0,5 M NaCl, pH 2,2. Después de la centrifugación, el sobrenadante (eluato) se neutralizó agregando Tris sin tampón 2 M. Para la eliminación de la unión del fago a las moléculas de la superficie celular distintas del antígeno diana, se realizó una post-adsorción tres veces con $0,5 - 1,0 \times 10^7$ células de adsorción cada una. El sobrenadante final se usó para la infección de 14 ml de cultivo de E. coli TG1 cultivado hasta una OD600 de 0,6 - 0,8. El cultivo se incubó durante 45 minutos en un baño de agua a 37 °C para la infección del fago. Los sedimentos bacterianos se resuspendieron en medio 2xYT, se sembraron en placas de agar LB/Cam y se incubaron a o/n a 30 °C. Las colonias se rasparon de las placas y se usaron para rescate de fagos y amplificación de fagos. Los fagos amplificados se usaron para la siguiente ronda de paneo. La segunda y tercera ronda de paneo celular completo se realizó de acuerdo con el protocolo de la primera ronda.

Ejemplo 2-3: Subclonación, expresión y cribado de fragmentos Fab

[00471] Para facilitar una rápida expresión de Fab soluble, los insertos que codifican Fab del fago HuCAL PLATINUM® seleccionado se subclonaron a partir del vector de visualización pMORPH®30 en el vector de expresión pMORPH®x11_FH. La subclonación se realizó por digestión triple a través de EcoRI, XbaI y BmtI. Después de la transformación de E. coli TG1-F-, la expresión del clon único y la preparación de extractos periplásmicos que contienen fragmentos HuCAL®-Fab se realizaron según se ha descrito previamente (Rauchenberger et al., 2003).

[00472] Los insertos de codificación Fab del fago Ylanthia® seleccionado se subclonaron a partir del vector de visualización pYPdis10 en el vector de expresión pYBex10_Fab_FH. La subclonación se realizó por digestión triple a través de XbaI, EcoRI-HF y PstI-HF. Después de la transformación de TGF1-F de E.coli se ejecutó la expresión del clon único y la preparación de extractos periplásmicos que contienen fragmentos Ylanthia®-Fab según se ha descrito previamente (Rauchenberger et al., 2003).

[00473] La expresión de fragmentos Fab codificados por pMORPH[®]x11_Fab_FH y pYBex10_Fab_FH en células de *E. coli* TG1 F⁻ se llevó a cabo en cultivos en matraces de agitación usando 500 ml de medio 2xYT suplementado con glucosa al 0,1% y cloranfenicol 34 µg/ml. Los cultivos se agitaron a 30 °C hasta que la OD₆₀₀ alcanzó un valor de 0,5. La expresión de Fab se indujo mediante la adición de IPTG (isopropil-β-D-tiogalactopiranosido) a una concentración final de 0,75 mM y se cultivó adicionalmente durante 20 h 30°C. Las células se cosecharon y se sometieron a disrupción usando lisozima. Los fragmentos Fab marcados con His6 (SEQ ID NO: 267) se aislaron mediante IMAC (Bio-Rad, Alemania) y se eluyeron usando imidazol. El intercambio de tampón por 1x PBS de Dulbecco (pH 7,2) se realizó usando columnas PD10 (GE Healthcare, Alemania). Las muestras se filtraron estériles (0,2 µm). Las concentraciones de proteínas se determinaron por espectrofotometría UV. La pureza de las muestras se analizó en desnaturalización, reduciendo 15% SDS-PAGE. La homogeneidad de las preparaciones de Fab se determinó en estado nativo por cromatografía de exclusión por tamaño (HP-SEC) con estándares de calibración.

[00474] En el cribado de FACS, los Fabs purificados se titularon en una variedad de líneas celulares que expresan PMEL17 y que no expresan PMEL17 (para control). Las células se cosecharon usando Accutase, ajustado a razón de ~ 4x10⁶ células/ml en tampón FACS (PBS, 3% FCS y 0,02% Na-Azida) y se mantuvieron en hielo para evitar la internalización. Se transfirieron 15 µl de suspensión celular/pocillo a placas de fondo en V de 384 pocillos (Greiner, Cat # 781280) y se incubaron con 15 µl de Fab a diferentes concentraciones (en general entre 200 y 3,5x10⁻³nM) durante 1 hora a 4 °C, agitando suavemente. Después de la incubación, las células se lavaron tres veces con tampón FACS. Después de cada etapa de lavado, las células se centrifugaron (250xg, 4 min, 4 °C) y se resuspendieron cuidadosamente. Se agregaron 15 µl de anticuerpo de detección conjugado con PE (IgG antihumana de cabra conjugada con PE, fragmento F(ab')₂ específica, 1:150 en tampón FACS; Jackson Immuno Research, # 109-116-097) o Alexa Fluor (IgG antihumana de cabra conjugada con flúor Alexa, fragmento F (ab')₂ específica, 1: 150 en tampón FACS; Jackson Immuno Research, # 109-606-097) y las muestras se incubaron durante 45 minutos a 1 hora en hielo en la oscuridad, agitando con suavidad. Después de 3 etapas de lavado, las células se resuspendieron en 30 µl de tampón FACS y las muestras se midieron usando el dispositivo IntelliCyt HTFC.

[00475] Para verificar adicionalmente la especificidad de los anticuerpos identificados, el antígeno se inmunocapturó del lisado celular y se usó como material de recubrimiento para cribados basados en ELISA. Las células que expresan PMEL17 y las células que no expresan

PMEL17 (utilizadas como control negativo) se centrifugaron (250 g, 5 min) y se resuspendieron en tampón de lisis (tampón de lisis Tris MSD, Meso Scale Discovery, R60TX-2) conteniendo inhibidores de proteasa (Cóctel de inhibidores de proteasa completo sin EDTA, Roche, 11 873 580 001) de 1×10^7 a 1×10^8 células/ml y se incubaron 30 min a 4 °C. El lisado se centrifugó a 13000 rpm durante 5 minutos para descartar los restos celulares y el sobrenadante se dividió en alícuotas y se almacenó a -80°C. Las pruebas preliminares demostraron que el lisado podía congelarse y descongelarse 3 veces sin una gran pérdida de señal en ELISA.

[00476] Con el fin de realizar el cribado ELISA, se recubrieron IgGs anti-His durante una noche en una placa maxisorb de 384 pocillos (R&D Systems, MAB050, 10 µg/ml, 20 µl por pocillo). Las placas se bloquearon con BSA al 3% y se transfirieron 20 µl de Fab purificado a diferentes concentraciones (en general de 400 a 0,2 nM) a cada pocillo durante 1 hora. La placa se lavó 3 veces y se agregaron 20 µl de PMEL17 conteniendo lisado celular a una concentración de 2×10^5 células lisadas/pocillo durante 1 hora. Después de 3 lavados adicionales, se reveló la presencia de PMEL17 usando el anticuerpo herramienta PMEL17 biotinilado (5 µg/ml, 20 µl por pocillo) y estreptavidina-ECL (Dianova, 13MSA37, 1: 1500, 20 µl por pocillo). Se agregaron 20 µl por pocillo de buffer de lectura MSD 1X (Meso Scale Discovery, R92TC-2) a la placa y se detectaron señales a través del dispositivo MSD Sector Imager 6000.

Ejemplo 2-4: Conversión a IgG

[00477] La conversión de los Fabs seleccionados en IgG se realizó mediante un método basado en PCR en formato de 96 pocillos. Los vectores de expresión bacterianos de Fab pMORPH®x11_FH y pYBex10_Fab_FH se convirtieron en el vector de expresión de mamífero IgG pMORPH®4 y pYMex10 (para los clones HuCAL e Ylanthia, respectivamente).

[00478] El ADN plasmídico pMORPHx11_FH se amplificó primero por PCR usando un cebador biotinilado específico para la región líder phoA y un cebador no biotinilado específico para el dominio bacteriano CL. El producto amplificado se capturó en perlas de estreptavidina, se digirió con BsiWI o HpaI (para los clones VLkappa o VLLambda, respectivamente), se lavó y luego se digirió nuevamente con MfeI. Este procedimiento dio como resultado la liberación del esqueleto purificado del vector en el sobrenadante, que ahora carece de la región de cadena ligera constante (CL) bacteriana y del líder de cadena pesada de phoA. Luego se clonó un casete de expresión de pIN de mamífero específico kappa o lambda en el esqueleto del vector portador de la CL de mamífero, el sitio polyA, el promotor CMV y la secuencia líder de la cadena pesada de mamífero. En un segundo paso de PCR, el inserto Fab recién generado se amplificó

nuevamente usando un cebador biotinilado específico para la región CH1 y un cebador no biotinilado que se une dentro del líder bacteriano ompA. El producto de PCR se capturó en perlas de estreptavidina, se digirió con EcoRV, se lavó y se digirió con BlnI dando como resultado la liberación del inserto purificado en el sobrenadante. Los insertos finalmente se clonaron en el vector aceptor Fab_Cys para la expresión en células de mamífero.

[00479] El ADN plasmídico pYBex10_Fab_FH se amplificó primero por PCR usando un cebador biotinilado específico para la región líder phoA y un cebador no biotinilado específico para el dominio bacteriano CL. El producto amplificado se capturó en perlas de estreptavidina, se digirió con NheI, se lavó y luego se digirió nuevamente con KpnI. Este procedimiento dio como resultado la liberación del esqueleto purificado del vector en el sobrenadante, que ahora carece de la región de cadena ligera constante (CL) bacteriana y del líder de cadena pesada de phoA. Luego se clonó un casete de expresión de pIN de mamífero específico kappa o lambda en el esqueleto del vector portador de la CL de mamífero, el sitio polyA, el promotor CMV y la secuencia líder de la cadena pesada de mamífero. En un segundo paso de PCR, el inserto Fab recién generado se amplificó nuevamente usando un cebador biotinilado específico para la región CH1 y un cebador no biotinilado que se une dentro del líder bacteriano ompA. El producto de PCR se capturó en perlas de estreptavidina, se digirió con XhoI, se lavó y se digirió con NdeI dando como resultado la liberación del inserto purificado en el sobrenadante. Los insertos finalmente se clonaron en el vector aceptor Fab_Cys para la expresión en células de mamífero.

[00480] Después de la transformación de células azules E. coli XL-1, los clones individuales se controlaron mediante PCR de colonias y secuenciación de toda la región de inserción.

Ejemplo 2-5: Cribado confirmatorio de IgG humana

[00481] Las preparaciones de ADN de las colonias individuales se obtuvieron usando un kit de preparación de ADN apropiado en combinación con el dispositivo BioRobot®8000. Las concentraciones individuales de ADN se determinaron por espectrofotometría UV. Las células eucariotas HEK293 c18 (ATCC # CRL-10852) se usaron en un sistema de expresión de 96 pocillos para la generación de sobrenadantes de cultivo celular acondicionado conteniendo IgG de longitud completa. Las células eucariotas HEK293 c18 se sembraron en una placa de fondo plano de 96 pocillos a una densidad de $\sim 4 \times 10^4$ células/50 μ l/pocillo el día anterior y se transfectaron con cantidades iguales de ADN del vector de expresión de Ig. Luego de la incubación durante 40-50 h a 37 °C y 6% de CO₂, los sobrenadantes del cultivo se transfirieron

a una placa de fondo en U de 96 pocillos y se eliminaron por centrifugación. Los sobrenadantes de Ig resultantes fueron testeados mediante un ELISA de captura anti-Fd para el cálculo de la concentración de Ig en referencia a estándares conocidos y se almacenaron a -20 °C para su uso posterior en ensayos de detección de especificidad y/o funcionales.

[00482] El ADN de los clones de interés se sometió a secuenciación con el cebador CMV_HC_for (CTC TAG CGC CAC CAT GAA ACA (SEQ ID NO: 264)) para el dominio VH y IgG_const_for (AGC CCA GCA ACA CCA AGG (SEQ ID NO: 265)) para el dominio Fc seguido de secuenciación de cadena ligera con cebador promotor T7 (TAA TAC GAC TCA CTA TAG GG (SEQ ID NO: 266)) para obtener información completa de la secuencia de IgG.

[00483] El cribado FACS se realizó en el formato de placa de 384 pocillos utilizando la plataforma de cribado HTFC de IntelliCyt. Las células se cosecharon usando Accutase, se ajustaron a $\sim 4 \times 10^6$ células/ml en tampón FACS (PBS, 3% FCS y 0,02% Na-Azida) y se mantuvieron en hielo para evitar la internalización. Se transfirieron 15 μ l de suspensión celular/pocillo a placas de fondo en V de 384 pocillos (Greiner, Cat # 781280) y se incubaron con 15 μ l de sobrenadante conteniendo IgG (o anticuerpos de control purificados diluidos) durante 1 hora a 4 °C, agitando suavemente. Después de la incubación, las células se lavaron tres veces con tampón FACS. Después de cada etapa de lavado, las células se centrifugaron (250xg, 4 min, 4°C) y se resuspendieron cuidadosamente. Se agregaron 15 μ l de anticuerpo de detección conjugado a PE (IgG antihumana de cabra conjugada a PE, fragmento F(ab')₂ específica, 1:150 en tampón FACS; Jackson Immuno Research, # 109-116-097) y las muestras fueron incubadas durante 45 minutos a 1 hora en hielo en la oscuridad, agitando suavemente. Después de 3 pasos de lavado, las células se resuspendieron en 30 μ l de tampón FACS y las muestras se midieron usando el dispositivo IntelliCyt HTFC.

Ejemplo 2-6: Producción de IgG humana y Fab_Cys humano

[00484] Las células eucariotas HKB11 se transfectaron con ADN de vector de expresión pMORPH®4 o pYMex10 que codifica tanto cadenas pesadas como ligeras de IgG. El sobrenadante del cultivo celular se recogió el día 3 o 7 después de la transfección. El sobrenadante del cultivo celular se sometió a cromatografía de afinidad de Proteína A estándar (MabSelect SURE, GE Healthcare) y Capture Select IgG-CH1 (BAC) para IgG humana y Fab_Cys humano, respectivamente. Salvo indicación en contrario, el intercambio de tampón se realizó por 1x PBS de Dulbecco (pH 7,2, Invitrogen) y las muestras se filtraron estériles (tamaño de poro de 0,2 μ m). La pureza de IgG se analizó en condiciones desnaturalizantes, de reducción

y no reducción utilizando un sistema Labchip (GXII, Perkin Elmer, USA) o en SDS-PAGE. Las concentraciones de proteínas se determinaron por espectrofotometría UV y se ejecutó HP-SEC para analizar las preparaciones de IgG en estado nativo.

Ejemplo 2-7: Producción de anticuerpos anti-PMEL17 G1 y G4

[00485] Para la primera ronda de paneo, se bloquearon aproximadamente 4×10^{13} de fago HuCAL PLATINUM® con PBS/5% FBS. En paralelo, $1,0 \times 10^7$ células diana que expresan el antígeno PMEL17 y $1,5-3,0 \times 10^7$ células de adsorción sin expresión del antígeno PMEL17 por grupo de fagos se resuspendieron en 1 ml de PBS/FCS al 5% para bloqueo en hielo. Para preaclara la unión no específica, los fagos se incubaron con $0,5 \times 10^7$ células de adsorción sin expresión del antígeno PMEL17 por grupo de fagos durante 30 minutos en hielo. Después de la incubación, las células se sedimentaron por centrifugación y el sobrenadante se agregó a una muestra nueva de células de adsorción con $0,5 \times 10^7$ sin expresión del antígeno PMEL17. Se aplicaron las mismas condiciones de incubación y la preabsorción se volvió a aplicar a una muestra nueva de $0,5 \times 10^7$ células de adsorción sin expresión del antígeno PMEL17 para un total de tres rondas de preabsorción. Después de la preabsorción final, se añadió el sobrenadante a $1,0 \times 10^7$ células diana que expresan el antígeno PMEL17 y se incubaron en hielo durante 2 horas con mezcla ocasional. Los complejos de fagos-células se lavaron tres veces en PBS/FCS al 5%. La elución del fago específicamente unido de las células diana se realizó mediante elución ácida de 10 minutos con glicina-HCl 0,1M/NaCl 0,5M, pH 2,5. Después de la centrifugación, el sobrenadante (eluato) se neutralizó mediante la adición de Tris sin tampón 2 M y este eluato se usó para infectar 14 ml de cultivo de E. coli TG1 F' hasta una OD600 de 0,6-0,8. El cultivo se incubó durante 20 minutos a 37°C y luego durante 25 minutos más a 37°C con agitación a 200 rpm para la infección del fago. Los sedimentos bacterianos se resuspendieron en medio 2xYT, se colocaron en placas de agar LB/cloroanfenicol y se incubaron durante la noche a 30°C. Las colonias se rasparon de las placas y se usaron para rescate de fagos y amplificación de fagos. Los fagos amplificados se usaron para la siguiente ronda de paneo. La segunda y tercera ronda de paneo se realizaron de manera similar con la excepción que solo se usó aproximadamente 1×10^{12} fago HuCAL para reducir el fondo y mejorar la efectividad del pre-aclaramiento. Después de la ronda final de paneo, se preparó ADN plasmídico a partir de cada salida de fago y los insertos conteniendo Fab se clonaron en un vector de expresión bacteriano. Después de la ligadura y transformación, las colonias individuales se recogieron en 2XT/cloranfenicol y se cultivaron. La expresión de Fab se indujo mediante la adición de IPTG 0,25 mM en cultivos ejecutados durante la noche en placas de microtitulación de 96 pocillos a 25°C. Los sedimentos celulares se lisaron con lisozima al 0,1% en PBS y luego se bloquearon mediante la adición de

BSA a una concentración final del 1%. La tinción de FACS se realizó en células de expresión y control de PMEL17.

Ejemplo 2-8: Afinidades aparentes de los anticuerpos anti-PMEL17

[00486] Las IgG purificadas se titularon en una variedad de líneas celulares que expresan PMEL17 y que no expresan PMEL17 (para control) con el fin de determinar los valores de EC50. Las células se cosecharon usando Accutase, se ajustaron a $\sim 4 \times 10^6$ células/ml en tampón FACS (PBS, 3% FCS y 0,02% Na-Azida) y se mantuvieron en hielo para evitar la internalización. Se transfirieron 15 μ l de suspensión celular/pocillo a placas de fondo en V de 384 pocillos (Greiner, Cat # 781280) y se incubaron con 15 μ l de IgG a diferentes concentraciones (en general de 200 a $3,5 \times 10^{-3}$ nM) durante 1 hora a 4°C, agitando suavemente. Después de la incubación, las células se lavaron tres veces con tampón FACS. Después de cada etapa de lavado, las células se centrifugaron (250xg, 5 min, 4°C) y se resuspendieron cuidadosamente. Se agregaron 15 μ l de anticuerpo de detección conjugado a PE (IgG antihumana de cabra conjugada a PE, fragmento F(ab')₂ específico, 1:150 en tampón FACS; Jackson Immuno Research, # 109-116-097) o Alexa Fluor (IgG antihumana de cabra conjugada con flúor Alexa, fragmento F(ab')₂ específica, 1:150 en tampón FACS; Jackson Immuno Research, # 109-606-097) y las muestras se incubaron durante 45 minutos a 1 hora en hielo en la oscuridad, agitando con suavidad. Después de 3 etapas de lavado, las células se resuspendieron en 30 μ l de tampón FACS y las muestras se midieron usando el dispositivo IntelliCyt HTFC. Los valores de EC50 se calcularon usando el software Graphpad Prism. La línea celular de melanoma G-361 expresa PMEL17 humano en un nivel inferior en comparación con la línea celular que sobreexpresa PMEL17 HKB11 humana, y por lo tanto permite una clasificación más precisa de los clones dependiendo de su afinidad aparente en las células. Según lo ilustrado en la Tabla 3, se alcanzó una variedad de EC50 que oscila entre ~ 200 pM y ~ 70 nM.

Tabla 3. Afinidades aparentes (FACS EC50 (nM)) y reactividad cruzada de anticuerpos anti-PMEL17.

	G-361 (PE)	G-361 (Alexa Fluor)	HKB11-cyno (Alexa Fluor)	HKB11-rata (Alexa Fluor)	B16-F10 (ratón) (Alexa Fluor)	UACC-62 (PE)	Perfil inter especies (basado en la detección del anticuerpo con C14)
Y101341	0,4		2,6	1,8	1,2	Negativo	h/c/r/m
Y010906	-	2,0	2,0	21,7	139,8	Negativo	h/c/r/m

Y010900	-	1,3	1,2	9,3	>100	Negativo	h/c/r/m
Y010355	0,5		3,9	0,8	0,8	Negativo	h/c/r/m
Y010356	1,6		4,5	1,4	1,4	Negativo	h/c/r/m
Y010429	2,5		10,7	1,5	60,2	Negativo	h/c/r
MOR024354	-	1,7	2,1	2,4	>100	Negativo	h/c/r
Y010415	0,3		5,4	0,4	>100	Negativo	h/c/r
Y010903	-	3,2	2,0	5,6	927,5	Negativo	h/c/(m)
Y010910	-	10,0	3,5	13,7	41,1	Negativo	h/c/(m)
MOR024353	-	62,8	1,6	7,5	>100	Negativo	h/c
Y010417	2,8		6,3	>100	>100	Negativo	h/c

Ejemplo 2-9: Reactividad cruzada de anticuerpos anti-PMEL17

[00487] La especificidad cruzada de las IgG se evaluó por Clasificación de células activada por fluorescencia (FACS, *por sus siglas en inglés*) en G-361 (melanoma humano), PMEL17 HKB11-cyno, PMEL17HKB11-rata y B16-F10 (melanoma que expresa PMEL17 de ratón) (Tabla 3). La prueba en G-361 se realizó usando un anticuerpo de detección marcado para PE. Contrariamente, un anticuerpo de detección marcado con Alexa-Fluor debió usarse para evaluar a los candidatos en las otras líneas celulares para alcanzar señales detectables.

[00488] Las IgG se clasificaron en varios grupos de epítomos de acuerdo con sus perfiles de especificidad cruzada. Sin embargo, los diversos perfiles de reactividad cruzada de las IgG sugieren que se dirigen a por lo menos 4 epítomos (humano/cinamolgo/rata/ratón, humano/cinamolgo/rata, humano/cinamolgo/ratón y humano/cinamolgo).

Ejemplo 2-10: Ensayos de ADC

[00489] Las IgG se probaron en respuesta a la dosis en cuanto a su capacidad para internalizar e inducir la muerte de varias células que expresan PMEL17 tanto en un ensayo de ADC con evaluación económica como después de la conjugación directa.

[00490] Para el ensayo de ADC con evaluación económica, se usó el compuesto Fab-ZAP (acoplado a anti-hu-mAb-saporina de cabra; ATS Biotechnology, Cat # IT-51) que se une

específicamente a un Fc humano y se acopla a un elemento de citotoxina, la saporina. Las células se cosecharon usando Accutase y se ajustaron a 5×10^4 células/ml. Se transfirieron 50 μ l de la suspensión celular por pocillo a una placa blanca de fondo transparente plano de 96 pocillos (Corning, 3610) y se incubó durante la noche a 37°C, 5% de CO₂. Al día siguiente, los candidatos de anticuerpos se incubaron a diferentes concentraciones (en general de 44 a 7×10^{-3} nM) con el compuesto Fab-ZAP a 8 nM durante 30 minutos a 37°C. Luego se agregaron 50 μ l por pocillo de los complejos IgG - Fab-ZAP a las células diana. Para los controles, se prepararon pocillos con células solamente, células incubadas solo con IgG candidatas (= control de viabilidad al 100%) y células incubadas solo con Fab ZAP (para verificar la muerte inespecífica del reactivo secundario). La concentración final de IgG fue de 22 a $3,5 \times 10^{-3}$ nM y Fab-ZAP 4 nM. Las placas se incubaron durante 72 h a 37°C y 5% de CO₂. La cantidad de células viables se evaluó usando CellTiter-Glo (Promega # G7571) y la luminiscencia detectada con el dispositivo Tecan Infinite 500. La viabilidad se normalizó luego al control de células + IgG solamente.

[00491] Casi todas las IgG fueron capaces de matar eficazmente el melanoma G-361 (> 80% de muerte máxima) y mostraron una muerte limitada en las células 293T que no expresan PMEL17 (<30% de muerte máxima). La eliminación de G-361 también se logró con un rango de EC₅₀ que puede estar relacionado con la afinidad o el epítipo. La especificidad cruzada también podría confirmarse para la mayoría de las IgG reactivas a humano/cinomolgo/rata/ratón, humano/cinomolgo/rata y humano/cinomolgo/ratón, es decir, las IgG específicas para PMEL17 de ratón también podrían matar B16-F10 (melanoma de ratón).

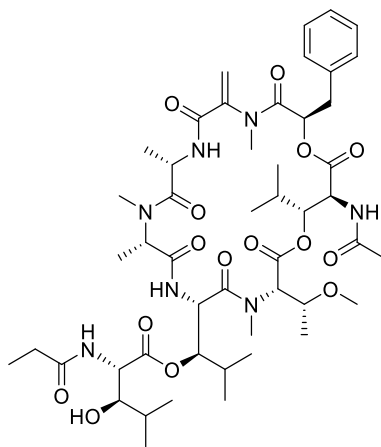
Ejemplo 2-11: Diseño de anticuerpos anti-PMEL17

[00492] En general, todos los procesos de ingeniería se realizaron utilizando estrategias basadas en PCR. Los procesos de ingeniería involucraron los siguientes aspectos: mutaciones de línea germinal, eliminación de sitios PTM, ingeniería de pl y optimización de codones. Después de la síntesis y el ensamblaje por PCR de extensión solapada, los fragmentos rediseñados de VH y VL se subclonaron en los esqueletos de vectores apropiados para las expresiones de IgG posteriores.

Ejemplo 3: Síntesis de los Compuestos A1-A3

Ejemplo 3-1: Proceso de aislamiento de (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-22-isopropil-3-((R)-1-metoxietil) -4,9,10,12,16-pentametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaóxido-1,19-dioxo-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il) -2-

metilpropil (2S,3R)-3-hidroxi-4-metil-2-propionamidopentanoato (A1) a partir de hojas secas de *Ardisia crenata*



(A1)

[00493] El Compuesto A1 fue aislado en base a los métodos descritos en la Publicación de Patente Japonesa Nro. JP62283999. Paso 1: Extracción: 25 kg de hojas secas de *Ardisia crenata* se molieron en polvo fino y se extrajeron con 500 L de metanol. Después de la filtración, el extracto se evaporó a sequedad. El residuo fue disuelto en 100 L de acetato de etilo y se extrajo cinco veces con 100 L de agua desionizada (se agregó cloruro de sodio para mejorar la separación de fases. La capa orgánica fue evaporada a sequedad. El residuo fue disuelto en 50 L acetonitrilo/agua (9/1) y se extrajo con 50 L de heptano. La capa de acetonitrilo/agua fue evaporada hasta que quedó solamente agua. Luego se extrajo con 50 L de acetato de etilo. La capa de acetato de etilo se evaporó a sequedad obteniéndose 109 g de extracto crudo.

[00494] Paso 2: Desgrasado: El extracto crudo fue disuelto en 25 L acetonitrilo/agua (9/1) y extraído tres veces con 25 L de heptano. La capa de acetonitrilo/agua se evaporó hasta quedar solamente agua. Esto luego fue extraído con 25 L de acetato de etilo. La capa de acetato de etilo se evaporó a sequedad obteniéndose 40 g de extracto crudo.

[00495] Paso 3: Cromatografía instantánea: El extracto crudo fue disuelto en acetona/metanol (1/1), adsorbido sobre 100 g de Isolute (tierra diatomácea) y se evaporó a sequedad. Se ejecutó una cromatografía instantánea en gel de sílice con un sistema disolvente ternario con ciclohexano (eluyente A), acetato de etilo (eluyente B) y metanol (eluyente C) (detalles experimentales: columna: RediSep Rf 120 g; velocidad de flujo: 85 mL/min; gradiente: 0 min: 75 % A, 25 % B, 0 % C; 3 min: 75 % A, 25 % B, 0 % C; 10 min: 0 % A, 100 % B, 0 % C; 17,5 min: 0 % A, 90 % B 10 % C; 25 min: 0 % A, 50 % B, 50 % C; 30 min: 0 % A, 50 % B, 50 % C; los diferentes segmentos del gradiente están conectados por cambios lineales a lo largo del

tiempo). Se realizaron cuatro corridas con 10 g de extracto cada una. Se aplicó fraccionamiento basado en el tiempo y las fracciones recogidas se analizaron mediante UPLC-UV-MS para detectar la presencia del Compuesto (A1). Las fracciones que contenían el Compuesto (A1) se agruparon y se evaporó a sequedad lo cual dio como resultado una fracción de 25 g.

[00496] Paso 4: Cromatografía de exclusión por tamaño (SEC): La fracción de 25 g fue disuelta en 400 mL de metanol y fraccionada adicionalmente por SEC en una columna (longitud 25 cm, diámetro 12,5 cm) empaquetada con Sephadex LH20 y metanol como eluyente. Las fracciones de 200 mL fueron respectivamente recogidas y las fracciones recogidas fueron analizadas por UPLC-UV-MS para determinar la presencia del Compuesto (A1). Las fracciones conteniendo el Compuesto (A1) se agruparon y se evaporó a sequedad lo cual dio como resultado una fracción enriquecida de 6,2 g.

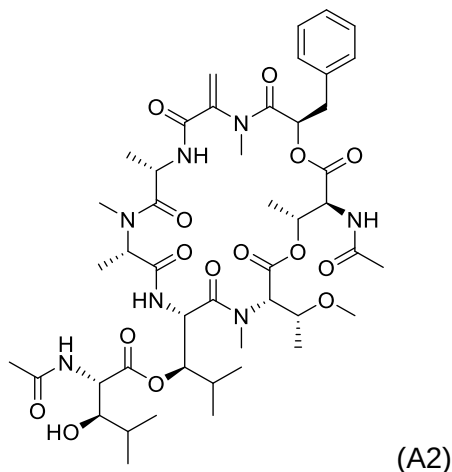
[00497] Paso 5: Primera HPLC preparativa: La fracción enriquecida de 6,2 g fue disuelta en 12 mL metanol/dimetilsulfóxido (1/1) y se fraccionó adicionalmente por HPLC preparativa (detalles experimentales: columna: Sunfire C18, 30 x 150mm, 5µm tamaño de partícula; eluyente A: agua desionizada con 0,1 % ácido fórmico, eluyente B: metanol con 0,1 % ácido fórmico; velocidad de flujo 60 mL/min; gradiente: 0 min: 35 % A, 65 % B; 0,5 min: 35 % A, 65 % B; 17 min: 15 % A, 85 % B; 15,0 min: 0 % A, 100 % B; 19 min: 0 % A, 100 % B; 19,1 min: 35 % A, 65 % B; 20 min: 35 % A, 65 % B; los diferentes segmentos del gradiente están conectados por cambios lineales a lo largo del tiempo). El fraccionamiento se disparó por espectrometría de masas. Se ejecutaron 15 corridas con 410 mg de fracción enriquecida cada una. Las fracciones conteniendo el Compuesto (A1) se agruparon y se evaporó a sequedad lo cual dio como resultado una fracción semi-pura de 488 mg con un contenido estimado de 70 % Compuesto (A1).

[00498] Paso 6: Segunda HPLC preparativa: La fracción semi pura de 488 mg fue disuelta en 4 mL metanol y se fraccionó adicionalmente por HPLC preparativa (detalles experimentales: columna: X-Select PFP, 19 x 250mm, 5µm tamaño de partícula; eluyente A: agua desionizada con 0,1 % ácido fórmico, eluyente B: acetonitrilo con 0,1 % ácido fórmico; velocidad de flujo 30 mL/min; gradiente: 0 min: 45 % A, 55 % B; 0,5 min: 45 % A, 55 % B; 24 min: 25 % A, 75 % B; 24,0 min: 0 % A, 100 % B; 27,5 min: 0 % A, 100 % B; 27,6 min: 45 % A, 55 % B; 30,5 min: 45 % A, 55 % B; los diferentes segmentos del gradiente están conectados por cambios lineales a lo largo del tiempo). El fraccionamiento se disparó por espectrometría de masas. Se ejecutaron cinco corridas con 98 mg de fracción semi-pura cada una. Las fracciones

conteniendo el Compuesto (A1) se agruparon y se evaporó a sequedad lo cual dio como resultado 287 mg de Compuesto (A1) con una pureza > 95 %.

[00499] Compuesto (A1): Tiempo de retención: 4,73 min, fórmula molecular $[M+H]^+$: $C_{49}H_{76}N_7O_{15}^+$, masa monoisotópica calculada $[M+H]^+$: 1002.5394 Da, masa observada: 1002.5391 Da. Detalles experimentales: columna: ACQUITY UPLC BEH C18, 2,1 x 100mm, 1,7 μ m tamaño de partícula; eluyente A: agua desionizada con 0,1 % ácido fórmico, eluyente B: acetonitrilo con 0,1 % ácido fórmico; velocidad de flujo 0,9 mL/min; gradiente lineal: 0 min: 95 % A, 5 % B a 6,4 min: 0 % A, 100 % B. ^1H NMR (600 MHz, Acetonitrilo- d_3) δ 8,36 (d, J = 9,4 Hz, 1H), 7,50 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 7,38 – 7,22 (m, 6H), 6,94 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 9,9 Hz, 1H), 5,39 (d, J = 9,8 Hz, 1H), 5,34 (dd, J = 8,8, 3,8 Hz, 1H), 5,31 – 5,25 (m, 2H), 5,21 – 5,15 (m, 2H), 5,11 (dd, J = 9,9, 1,9 Hz, 1H), 4,90 – 4,84 (m, 1H), 4,70 (q, J = 6,9 Hz, 1H), 4,39 (dd, J = 7,7, 2,1 Hz, 1H), 4,10 (d, J = 9,8 Hz, 1H), 3,82 – 3,74 (m, 1H), 3,60 (ddd, J = 9,8, 4,4, 2,0 Hz, 1H), 3,38 (s, 3H), 3,23 (s, 3H), 3,16 – 3,11 (m, 1H), 2,94 – 2,85 (m, 1H), 2,84 (s, 3H), 2,66 (s, 3H), 2,55 – 2,43 (m, 2H), 2,16 (s, 3H), 1,96 – 1,90 (m, 1H), 1,89 – 1,74 (m, 2H), 1,37 (d, J = 7,0 Hz, 3H), 1,32 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 1,19 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 1,17 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 1,12 (d, J = 7,7 Hz, 3H), 1,06 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,96 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,88 (d, J = 6,6 Hz, 3H), 0,85 (d, J = 7,0 Hz, 3H), 0,77 (d, J = 6,5 Hz, 3H).

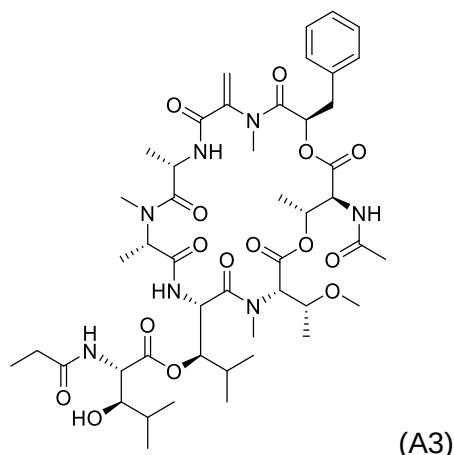
Ejemplo 3-2: Proceso de generación para (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-3-((R)-1-metoxietil)-4,9,10,12,16,22-hexametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoso-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il)-2-metilpropil (2S,3R)-2-acetamido-3-hidroxi-4-metilpentanoato (**A2**)



El Compuesto (A2) se obtuvo usando los métodos descritos en [M. Taniguchi et al., *Tetrahedron* 59 (2003) 4533-4538]. El aislamiento se realizó usando los métodos descritos para el Compuesto (A1) en el Ejemplo 3-1 Luego el material fue caracterizado por UPLC-UV-HRMS, experimentos 1D-NMR- y 2D-NMR. Compuesto (A2): Tiempo de retención: 4,20 min,

fórmula molecular $[M+H]^+$: C₄₆H₇₀N₇O₁₅⁺, masa monoisotópica calculada $[M+H]^+$: 960,4924 Da, masa observada: 960,4914 Da. ¹H NMR (600 MHz, ^{1,4}-Dioxano-*d*₈) δ 8,36 (d, *J* = 9,2 Hz, 1H), 7,37 (d, *J* = 10,0 Hz, 1H), 7,31 – 7,21 (m, 4H), 7,21 – 7,16 (m, 2H), 6,79 – 6,72 (m, 2H), 5,40 – 5,37 (m, 1H), 5,36 – 5,33 (m, 1H), 5,30 – 5,28 (m, 2H), 5,20 (dd, *J* = 9,0, 3,7 Hz, 1H), 5,13 (d, *J* = 1,9 Hz, 1H), 5,04 (dd, *J* = 9,9, 1,4 Hz, 1H), 4,89 – 4,82 (m, 1H), 4,73 (q, *J* = 6,9 Hz, 1H), 4,39 (dd, *J* = 8,0, 2,0 Hz, 1H), 4,04 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 3,80 – 3,73 (m, 1H), 3,65 (ddd, *J* = 9,8, 4,3, 1,9 Hz, 1H), 3,37 (s, 3H), 3,21 (s, 3H), 3,11 (dd, *J* = 14,7, 3,7 Hz, 1H), 2,89 (dd, *J* = 14,7, 8,9 Hz, 1H), 2,84 (s, 3H), 2,62 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 2,12 (s, 3H), 1,99 – 1,90 (m, 1H), 1,75 – 1,69 (m, 1H), 1,35 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 1,30 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 1,18 – 1,14 (m, 6H), 1,11 (d, *J* = 6,5 Hz, 3H), 1,04 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 0,86 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,78 (d, *J* = 6,6 Hz, 4H).

Ejemplo 3-3: Proceso de generación para (R)-1-((3S,6S,9S,12S,18R,21S,22R)-21-acetamido-18-bencil-3-((R)-1-metoxietil)-4,9,10,12,16,22-hexametil-15-metilen-2,5,8,11,14,17,20-heptaoso-1,19-dioxa-4,7,10,13,16-pentaazaciclodocosan-6-il)-2-metilpropil (2S,3R)-3-hidroxi-4-metil-2-propionamidopentanoato **(A3)**



El Compuesto (A3) se obtuvo usando los métodos descritos en [M. Taniguchi et al.

Tetrahedron 59 (2003) 4533-4538]. El aislamiento se realizó usando los métodos descritos para el Compuesto (A1) en el Ejemplo 3-1. Luego el material fue caracterizado por UPLC-UV-HRMS, experimentos 1D-NMR- y 2D-NMR. Compuesto (A3): Tiempo de retención: 4,42 min, fórmula molecular $[M+H]^+$: C₄₇H₇₂N₇O₁₅⁺, masa monoisotópica calculada $[M+H]^+$: 974.5081 Da, masa observada: 974.5098 Da. ¹H NMR (600 MHz, ^{1,4}-Dioxano-*d*₈) δ 8,37 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 7,38 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 7,31 – 7,23 (m, 4H), 7,22 – 7,16 (m, 1H), 7,12 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 6,78 – 6,72 (m, 2H), 5,41 – 5,33 (m, 2H), 5,32 – 5,26 (m, 2H), 5,20 (dd, *J* = 8,8, 3,7 Hz, 1H), 5,12 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H), 5,04 (dd, *J* = 9,9, 1,7 Hz, 1H), 4,89 – 4,81 (m, 1H), 4,72 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 4,40 (dd, *J* = 7,8, 2,1 Hz, 1H), 4,04 (d, *J* = 9,8 Hz, 1H), 3,81 – 3,73 (m, 1H), 3,68 – 3,64 (m, 1H), 3,38 (s, 3H), 3,21 (s, 3H), 3,11 (dd, *J* = 14,6, 3,7 Hz, 1H), 2,89 (dd, *J* = 14,7, 8,9 Hz, 1H), 2,83 (s, 3H), 2,62 (s, 3H), 2,51 – 2,41 (m, 2H), 2,14 (s, 3H), 1,99 – 1,89 (m, 1H), 1,78 – 1,68 (m,

1H), 1,34 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H), 1,30 (d, $J = 6,5$ Hz, 3H), 1,18 – 1,14 (m, 6H), 1,13 – 1,08 (m, 6H), 1,04 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H), 0,86 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H), 0,78 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H).

Ejemplo 4: Proceso para la producción de conjugados de anticuerpo fármaco anti-PMEL17

[00500] El anticuerpo fue incubado con resina de proteína A RMP (GE) en una proporción de 10 mg de Ab a 1 ml de resina en PBS durante 15 minutos con mezcla en una columna descartable de tamaño apropiado. Se agregó cisteína HCl a una concentración final de 20 mM y se incubó con agitación durante 30 minutos a temperatura ambiente para permitir el desbloqueo de las cisteínas reactivas. La resina se lavó rápidamente con 50 volúmenes de columna de PBS en un colector de vacío. La resina luego se resuspendió en un volumen igual de PBS que contenía 250 nM CuCl_2 . La reformación de los disulfuros entre las cadenas del anticuerpo se controló tomando puntos de tiempo. En cada punto de tiempo, se eliminaron 25 μL de suspensión de resina, se agregaron 1 μL de Compuesto (B1) o Compuesto (B2) 20 mM, y el tubo se agitó varias veces. La resina se centrifugó, se eliminó el sobrenadante y luego se eluyó con 50 μL de tampón de elución de anticuerpo (Thermo). La resina se granuló y el sobrenadante se analizó mediante cromatografía de fase inversa usando una columna Agilent PLRP-S 4000A de 5 μm , 4,6x50 mm (el tampón A es agua, 0,1% TFA, Tampón B Acetonitrilo, 0,1% TFA, la columna se mantuvo a 80 C, Velocidad de flujo 1,5 ml/min).

[00501] Una vez determinado que el anticuerpo había reformado sus enlaces disulfuro intercadena, la resina se lavó con 10 volúmenes de columna de PBS y la resina se resuspendió en un volumen igual de PBS y se agregaron 8 equivalentes de enlazador-carga útil (20 mM) en DMSO y luego se incubó a temperatura ambiente durante 2 horas. La resina se lavó luego con 50 volúmenes de columna de PBS. El ADC se eluyó de la resina de proteína A con tampón de elución de anticuerpos y se neutralizó con 1/10 en volumen de Tris 1 M pH 9,0. El ADC luego se intercambió con tampón en PBS u otro tampón adecuado y se realizó una cromatografía preparativa de exclusión por tamaño para eliminar los agregados (S200 Increase; GE), de ser necesario. Se realizaron los siguientes análisis: SEC analítica para determinar el porcentaje de monómeros, espectroscopía de masas para determinar DAR, prueba de LAL para determinar la carga de endotoxina y la concentración de proteína se determinó mediante A280 utilizando el coeficiente de extinción y el peso molecular del anticuerpo.

Ejemplo 5: Actividad anti-melanoma uveal in vitro de los inhibidores de GNAQ/11 Compuesto (A1) y Compuesto (A2)

[00502] Células de melanoma uveal 92.1 y adenocarcinoma ductal pancreático MIAPACA se sembraron a baja densidad celular en placas de 96 pocillos y se trataron con

concentraciones crecientes de Compuesto (A1) o Compuesto (A2) según lo indicado. Después del tratamiento farmacológico durante 96 o 120 horas, se determinó la viabilidad celular y la proliferación utilizando un ensayo de viabilidad basado en resazurina. Brevemente, las células se incubaron con una solución a base de resazurina y el cambio de color se detectó mediante absorbancia con un espectrofotómetro y se usó como una lectura de la viabilidad celular. Los datos se presentan como la media de tres réplicas independientes y en relación con células tratadas con PBS (control). La Tabla 4 muestra la inhibición del crecimiento 50% (GI₅₀) para el Compuesto (A2) y el Compuesto (A1). El Compuesto (A2) y el Compuesto (A1) demuestran una potente actividad anti-UM dependiente del objetivo (Figura 1).

Tabla 4. Actividad inhibitoria del crecimiento del Compuesto (A1) y el Compuesto (A2) en células de MU

Línea celular	Mutación	Compuesto (A1) GI ₅₀ nM	Compuesto (A2) GI ₅₀ nM
92.1	GNAQ ^{Q209L}	0,18	7,7
MIAPACA	WT	> 10 µM	> 10 µM

Ejemplo 6: El Compuesto (A1) y el Compuesto (A2) inducen apoptosis en células de melanoma uveal

[00503] Las células 92.1 y MIAPACA se sembraron en placas de 96 pocillos (5000 células por pocillo) y se trataron con concentraciones crecientes de Compuesto (A1), Compuesto (A2), y una dosis fija de estaurosporina (100 nM, control positivo) según lo indicado. Después del tratamiento farmacológico durante 96, las células se sometieron a citometría de flujo activada por fluorescencia usando un anticuerpo de anexina V conjugado con un tinte fluorescente. Los datos se presentan como la media de tres réplicas independientes. El Compuesto (A2) y Compuesto (A1) indujeron apoptosis en las células de MU de manera dependiente de GNAQ/11 (Figura 2).

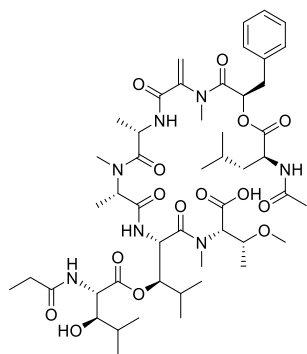
Ejemplo 7: Análisis de la inhibición de GNAQ/11 por el Compuesto (A1) y el Compuesto (A2) en células de melanoma uveal

[00504] Células de melanoma uveal 92.1 fueron tratadas con concentraciones crecientes de Compuesto (A1) o el Compuesto (A2) según lo indicado. Luego del tratamiento durante la noche, las células fueron procesadas para la determinación de los niveles de IP1 utilizando TR-FRET (transferencia de energía de resonancia fluorescente resuelta en el tiempo) o los niveles

de proteína mediante transferencia de Western. La Figura 3A ilustra los niveles de IP1 (nM) en las células 92.1 tratadas con DMSO (control), Compuesto (A2) o Compuesto (A1). La Figura 3B muestra la correlación entre los niveles de IP1 y la proliferación relativa en las células 92.1 tratadas con Compuesto (A1). La Figura 3C muestra las inmunotransferencias de las células 92.1 tratadas con el Compuesto (A1) y el Compuesto (A2) para determinar el efecto sobre la señalización ERK.

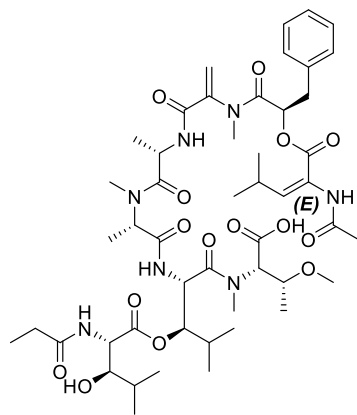
Ejemplo 8: Estabilidad metabólica y propiedades de PK del Compuesto (A1)

[00505] La estabilidad en plasma del Compuesto (A1) se investigó en plasma de ratón, rata, mono y humano y se comparó contra el tampón. Tanto la desaparición del Compuesto (A1) (Figura 4A) como la aparición de la forma de anillo abierto del Compuesto (A1) que tiene la

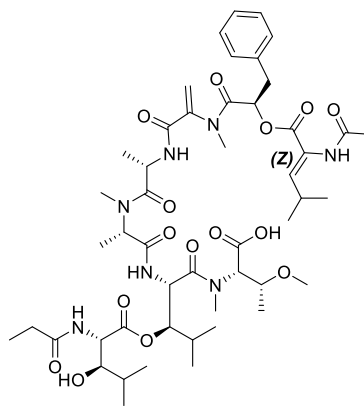


estructura del Compuesto (A4)

, Compuesto (A6)



, o el Compuesto (A8)



, (Figura 4B) se

monitorearon durante 24h. La transformación parece ser un poco más rápida en el plasma humano en comparación con las otras especies. Con la excepción de la rata, el agregar el % remanente del Compuesto (A1) y el % formado del Compuesto (A8) muestra estequiometría durante 24 h, lo que indica que ninguna otra transformación parece jugar un papel significativo (Figura 4C).

[00506] La PK del Compuesto (A1) después de la dosificación intravenosa en ratón se caracterizó por un aclaramiento muy alto y un volumen de distribución de moderado a alto. Se

observó un aumento ligeramente sobre proporcional de la exposición con la dosis en el rango de 0,2-0,8 mg/kg (Figura 4D). La tabla 5 que resume todos los valores de PK se muestra a continuación.

Tabla 5. Propiedades de PK del Compuesto (A1)

	Dosis (mg/kg)		
	0,2	0,4	0,8
C _{max} (nM)	31	83	240
C _{max} /D (nM/(mg/kg))	156	208	300
AUC _{inf} (nM*h)	16	47	137
AUC _{inf} /D (nM*h/(mg/kg))	82	118	171
C ₀ (nM)	43	108	380
C ₀ /D (nM/(mg/kg))	217	270	475
CL [mL/min/kg]	204	141	97
V _{ss} [L/kg]	8,6	4,9	4,6

Ejemplo 9: Estabilidad metabólica y propiedades de PK del Compuesto (A2)

[00507] La estabilidad in vitro del Compuesto (A2) se testeó en el plasma y la sangre de diferentes especies (Figura 5A). El Compuesto (A2) mostró buena estabilidad química en tres sistemas diferentes (Figura 5B). La PK del Compuesto (A2) en ratones balb/c hembra mostró un alto aclaramiento y una vida media de eliminación corta (Figura 5C). La Tabla 6 resume algunos valores de PK. El Compuesto (A2) mostró un alto aclaramiento intrínseco en los microsomas hepáticos de ratones, ratas y humanos, pero bajo aclaramiento en los hepatocitos, probablemente debido a la limitada permeabilidad de la membrana (Tabla 7). Las incubaciones del Compuesto (A2) en la fracción hepática S9 y en plasma mostraron vidas medias similares. El Compuesto (A2) y el Compuesto (A1) se mantuvieron estables en tampón a un pH de 5,6 y en los lisosomas durante 4 h (Figura 5D).

Tabla 6. Propiedades de PK del Compuesto (A2) en ratones balb/c hembras (1 mg/kg iv)

CL (mL·min⁻¹·kg⁻¹)	175 ± 29
t_{1/2} (h)	0,4 ± 0,01
AUC i.v. d.n. (nM·h)	101 ± 16

Tabla 7. Estabilidad del Compuesto (A2)

	Ratón	Rata	Humano
Microsomas hepáticos (ul/min/kg)	107	33	44
Hepatocitos (ul/min/10 ⁶ células)	-	8	<4
S9 hepática (+/- NADPH) t _{1/2} (h)	1,9/>2	>2/>2	1,9/>2
Plasma t _{1/2} (h)	2,1	4,1	2,0

Ejemplo 10: Actividad anti-melanoma uveal in vitro de ADCs anti-PMEL17-(B1)

[00508] Se sembraron células 92,1 parentales y de control no dirigidas (NT) o transducidas con PMEL17-ARNsh a baja densidad celular en placas de 96 pocillos y se trataron con concentraciones crecientes de 3207- (B1) (control de isotipo), G4-(B1), y G1-(B1) en presencia o ausencia de doxiciclina según lo indicado. Después del tratamiento farmacológico durante 96 o 120 horas, se determinaron la viabilidad y proliferación celular usando un ensayo de viabilidad basado en resazurina. Brevemente, las células se incubaron con una solución a base de resazurina y el cambio de color se detectó mediante absorbancia con un espectrofotómetro y se usó como una lectura de la viabilidad celular. Los datos se presentan como la media de tres réplicas independientes y en relación con células tratadas con PBS (control) (Figura 6). Los ADCs anti-PMEL17-(B1) inhiben la proliferación de células de melanoma uveal dependiendo de PMEL17 y la dosis.

Ejemplo 11: Los ADCs anti-PMEL17-(B1) inducen apoptosis en células de melanoma uveal

[00509] Se sembraron células 92.1 en placas de 96 pocillos (5000 células por pocillo) y se trataron con concentraciones crecientes de Compuesto (A1), 3207-(B1) (Control de isotipo), G4-(B1), y G1-(B1) según lo indicado. Después del tratamiento farmacológico durante 96, las células se sometieron a citometría de flujo activada por fluorescencia usando un anticuerpo de anexina V conjugado con un tinte fluorescente. Los datos se presentan como la media de tres

réplicas independientes. Tanto G4-(B1) como G1-(B1) indujeron la apoptosis en células 92.1 de acuerdo con la dosis (Figura 7).

Ejemplo 12: Actividad anti-melanoma uveal in vitro de ADCs anti-PMEL17-(B2) y mAbs anti-PMEL17

[00510] Se sembraron células 92.1 de melanoma uveal a baja densidad celular en placas de 96 pocillos y se trataron con concentraciones crecientes de 3207-(B2) (Control de isotipo), G4-(B2), y G1-(B2), y anti-PMEL17-B1 y –G4 mAbs según lo indicado. Después del tratamiento farmacológico durante 96 o 120 horas, la viabilidad celular y la proliferación se determinaron usando un ensayo de viabilidad basado en resazurina. Los datos se presentan como la media de tres réplicas independientes y en relación con células tratadas con PBS (control) (Figura 8). Los ADCs anti-PMEL17-(B2) y mAbs anti-PMEL17 exhiben un efecto antiproliferativo mínimo en células de melanoma uveal.

Ejemplo 13: Análisis de la inhibición de GNAQ/11 por ADCs anti-PMEL17-(B1) y anti-PMEL17-(B2) en células de melanoma uveal

[00511] Se trataron células de melanoma uveal 92.1 con DMSO, Compuesto (A1) (8 nM) y concentraciones crecientes de Isotipo-(B1), ADCs anti-PMEL17-(B1) y anti-PMEL17-(B2) según lo indicado. Después del tratamiento farmacológico durante 2 días, las células fueron procesadas para determinar los niveles de IP1 usando TR-FRET (transferencia de energía por resonancia fluorescente resuelta en el tiempo). Los niveles de IP1 (nM) se presentan como la media de 3 réplicas independientes. Según lo indicado por los niveles reducidos de IP1, tanto G1-(B1) como G1-(B2) inhiben GNAQ y GNA11 mutante de acuerdo con la dosis (Figura 9).

Ejemplo 14: Análisis de unión de los anticuerpos anti-PMEL17 a plaquetas intactas y células de melanoma uveal

[00512] La línea celular de melanoma uveal 92.1 y plaquetas aisladas de Plasma Rico en Plaquetas Humano (PRP de 3 donantes humanos) se sometieron a citometría de flujo activada por fluorescencia usando anticuerpos anti-PMEL17 G1 (línea negra) y G4 (línea gris), y anticuerpo secundario de IgG antihumano conjugado con un tinte fluorescente, o solo el anticuerpo secundario conjugado (línea gris claro) (Figura 10). Contrariamente a las células 92.1 de melanoma uveal, las plaquetas humanas no muestran la expresión de PMEL17 en la superficie celular.

Ejemplo 15: Impacto del Compuesto (A1) y ADCs anti-PMEL17-(B1) en la agregación de plaquetas humanas

[00513] Se incubó Plasma Rico en Plaquetas Humano (PRP) con ADC 17A9-(B1), un anti-PMEL Ab conjugado con B1 o Compuesto (A1) (0,1, 1, y 150 nM) durante 4, 16 o 24 h. Luego se midió la agregación plaquetaria después del tratamiento con el Péptido Activador del Receptor de Trombina 6 (TRAP6) a 32 μ M. Mientras que el Compuesto (A1) indujo la agregación plaquetaria, anti-PMEL17-(B1) no indujo la agregación plaquetaria hasta 24 horas (Figura 11).

Ejemplo 16: Los ADCs anti-PMEL17-(B1) inhiben el crecimiento tumoral en un modelo de ratón

[00514] Se trataron ratones desnudos hembras con xenoinjertos subcutáneos de luciferasa 92.1 con una sola inyección intravenosa de 3207-(B1), G1-(B1) o vehículo a las dosis indicadas. El tratamiento (dosis única por inyección i.v.) se realizó 17 días después de la inoculación del tumor. Los valores son media $\pm$ SEM; tamaño de la muestra, (n = 5-12 ratones por grupo). El volumen inicial del tumor al día 0 fue de aproximadamente 200-250 mm³. G1-(B1) inhibió el crecimiento tumoral de una manera dependiente de la dosis (Figura 12A).

[00515] El cambio de peso corporal de los ratones desnudos ingenuos hembras después del tratamiento con G1- (B1) se monitoreó a las dosis indicadas. Los tratamientos (dosis única de inyección i.v.) se realizaron en el día 0. Los valores son media $\pm$ SEM; tamaño de la muestra, (n=4 ratones por grupo). El peso corporal inicial al día 0 fue de aproximadamente 24 g. El peso corporal se midió todos los días durante 14 días después del tratamiento farmacológico. No se observó pérdida de peso corporal hasta 14 días después del tratamiento (Figura 12B).

[00516] Se realizó un análisis inmunohistoquímico del tejido tumoral de los xenoinjertos subcutáneos de 92.1 marcadas con luciferasa tratados con vehículo, 3207-(B1) (7,5 mg/kg de peso corporal) o G1-(B1) (7,5 mg/kg de peso corporal). Los tumores se fijaron en formalina tamponada neutra al 10% (vol/vol) durante 24 horas a temperatura ambiente, luego se enjuagaron en PBS, se procesaron para la deshidratación, se aclararon y se embebieron en parafina. Se prepararon secciones de 3 μ m y se procesaron para la tinción con hematoxilina y eosina (H&E) y para la inmunohistoquímica. La tinción inmunohistoquímica se realizó sobre secciones de tejido fijadas con formalina e incorporadas en parafina utilizando un sistema Bond-RX (Leica) totalmente automatizado para la tinción anti-hIgG (ThermoFischer) y anti-gp100 (PMEL17) (clon EP4863; Abcam), y un sistema totalmente automatizado Discovery XT (Ventana Medical System) para tinción anti-Ki67 (clon Sp6; NeoMarkers), anti-pERK1/2 (clon

D13.14.4E; Cell Signaling), anti-MITF (Sigma) y Caspasa-3 anti-escindida (Cell Signaling). Brevemente, el tratamiento con G1-(B1) dio como resultado la inhibición de la señalización de GNAQ y la inhibición de la proliferación de células tumorales según lo indicado a través de los niveles reducidos de pERK y Ki67, respectivamente (Figura 12C). Además, G1-(B1) indujo la apoptosis celular en comparación con los ratones tratados con vehículo y 3207-(B1)-, lo cual se correlacionó con la acumulación en las células tumorales de ADC G1-(B1) según lo detectado por marcado con IgG (Figura 12C). No se observaron cambios en los niveles de MITF y PMEL17 luego del tratamiento con G1-(A1) (Figura 12C).

[00517] Se testeó la agregación de plaquetas de sangre entera de ratones ingenuos tratados con vehículo, G1-(B1) (20 mg/kg de peso corporal), o Compuesto (A1) (0,01, 0,03, 0,1, y 0,3 mg/kg de peso corporal). Los animales fueron sacrificados 5 minutos después de una dosis única i.v. y la sangre se recogió a través de vena cava. Después de 1 h, se midió la agregación de sangre completa después de la activación de las plaquetas con ADP a 6,5 μ M (Figura 12D). Contrariamente al Compuesto (A1) G1-(B1) no tuvo ningún efecto significativo sobre la agregación plaquetaria inducida por ADP in vivo.

[00518] Se midió la agregación de plaquetas de sangre entera de ratones ingenuos tratados con vehículo y G1-(B1) (7,5 y 30 mg/kg de peso corporal) a las 24 h o 7 d luego de la dosificación. Los ratones fueron sacrificados las 24 horas o 7 días después de la dosis única i.v. y la sangre se recogió a través de vena cava. Después de 1 h, se midió la agregación de sangre completa después de la activación de las plaquetas con ADP a 6,5 μ M. No se observó inhibición de la agregación plaquetaria en ratones tratados con G1-(B1) durante hasta 7 días (Figura 12E).

Ejemplo 17: Efecto de G1-(B1) en un modelo de ratón con metástasis hepática y pulmonar de melanoma uveal

[00519] Ratones hembra NOD-Scid fueron inyectados por vía intravenosa con células 92.1 marcadas con luciferasa (aproximadamente 2 millones de células por animal) y se midió la bioluminiscencia dos veces por semana para evaluar la formación de tumores. Después de 45 días, todos los ratones inyectados desarrollaron metástasis hepáticas y pulmonares detectadas por la señal de bioluminiscencia (BLI) (Figuras 13A y 13B). Los ratones portadores de tumores fueron tratados con una sola inyección intravenosa de G1-(B1) (20 mg/kg de peso corporal) y se controló la bioluminiscencia en el tiempo como una lectura del avance del tumor. Se presentan imágenes individuales de cada ratón al día 45 luego de la inyección i.v. de células 92.1 marcadas con luciferasa (justo antes del inicio del tratamiento) y 12 días después del

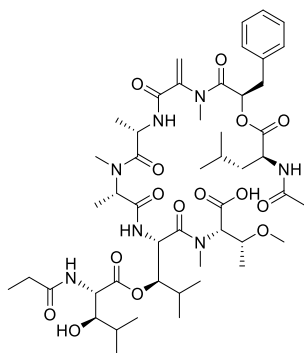
tratamiento (Figuras 13A y 13B); tamaño de la muestra, (n=6 ratones por grupo). La BLI inicial para la metástasis de hígado al día 0 fue de aproximadamente $2,8 \cdot 10^9$ p/seg/cm². Los tumores de pulmón (señal de bioluminiscencia) en la Figura 13B están indicados por una flecha negra. Según lo indica la bioluminiscencia reducida in vivo y ex vivo, G1-(B1) indujo la regresión de las metástasis hepáticas y pulmonares después de una sola dosis i.v. de 20 mg/kg.

[00520] La modulación correspondiente del peso corporal (% vs día 15) se evaluó 2-3 veces por semana antes y después del tratamiento con G1-(B1) 20 mg/kg (círculos grises). Los valores son media $\pm$ SEM; tamaño de la muestra, (n=5-6 ratones por grupo). El peso corporal inicial al día 15 fue de aproximadamente 21 g. El tratamiento con G1-(B1) dio como resultado la recuperación del peso corporal en un modelo de metástasis hepática y pulmonar de melanoma uveal.

Ejemplo 18: Propiedades PK de ADCs G1-(B1).

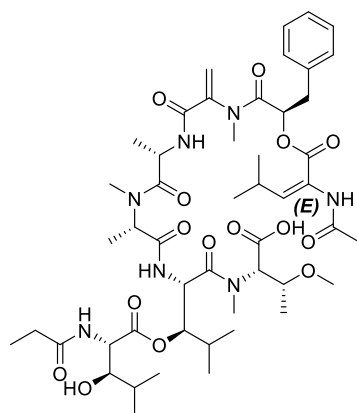
[00521] El perfil farmacocinético de G1-(B1) mostró un aumento ligeramente sobre proporcional de la exposición con dosis entre 7,5 y 30 mg/kg en ratones desnudos (Figura 14A). El aclaramiento, volumen de distribución y la vida media están en el rango típico para los ADC. La Tabla 8 resume algunos valores de PK.

[00522] En los ratones portadores de tumores, se midieron las concentraciones de carga útil libre después de la dosis, ya sea la unión al objetivo G1-(B1) o control de isotipo 3207-(B1). Se pudo observar un aumento claro (> 4 veces) en la entrega al tumor de la carga útil de Compuesto (A1) utilizando el ADC objetivo (Figura 14B). Se observó la conversión del Compuesto (A1) (círculos abiertos) en su forma de anillo abierto del Compuesto (A1) que tiene

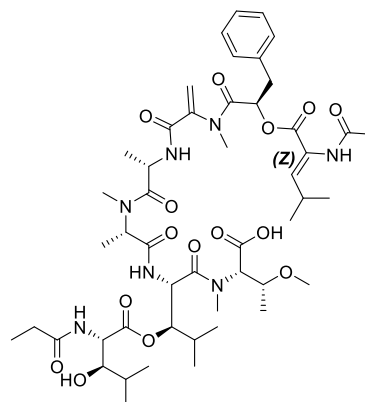


la estructura del Compuesto (A4)

, Compuesto (A6)



, o Compuesto (A8)



, (círculos

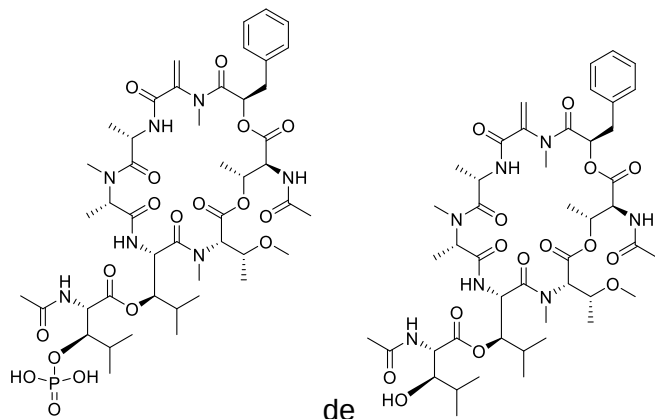
rellenos) mientras se conjugaba con el anticuerpo in vivo en ratones (Figura 14C). Las exposiciones en un estudio de eficacia in vivo, comparando dos formatos diferentes de DAR2 con el formato DAR4 de G1-(B1) y con el formato DAR4 Fc-silent, mostraron el aclaramiento más bajo para los ADCs DAR2 (E152C) y DAR4 Fc-silent, mientras que con la exposición a DAR2 (S375C) disminuye más rápido (Figura 14D). Al comparar la PK de los ADCs 3207 no dirigidos (Figura 14E) se puede deducir que el silenciamiento de Fc tiene un efecto significativo sobre la reducción del aclaramiento del formato DAR4.

Tabla 8. Propiedades de PK de ADCs G1-(B1)

Ratones desnudos - dosis (mg/kg)	7,5	30
AUC _{last} (ug/mL*h)	6`779 ± 1`061	45`346 ± 3`785
AUC _{last} (ug/mL*h) dosis normalizada	904	1`511
AUC _{inf} (ug/mL*h)	9`211 ± 2`337	73`680 ± 9`867
AUC extrap (%)	25 ± 9	38 ± 3
CL (mL/h/kg)	0,9 ± 0,3	0,4 ± 0,05
Vz (L/kg)	0,21 ± 0,01	0,15 ± 0,01
app. t _{elim} (h)	176 ± 37	259 ± 25

Ejemplo 19: Estabilidad in vitro de ADCs anti-PMEL17-GNAQ/11i en tampón, plasma de ratón, rata, y humano y estabilidad in vivo de ADCs anti-PMEL17-GNAQ/11i en ratón

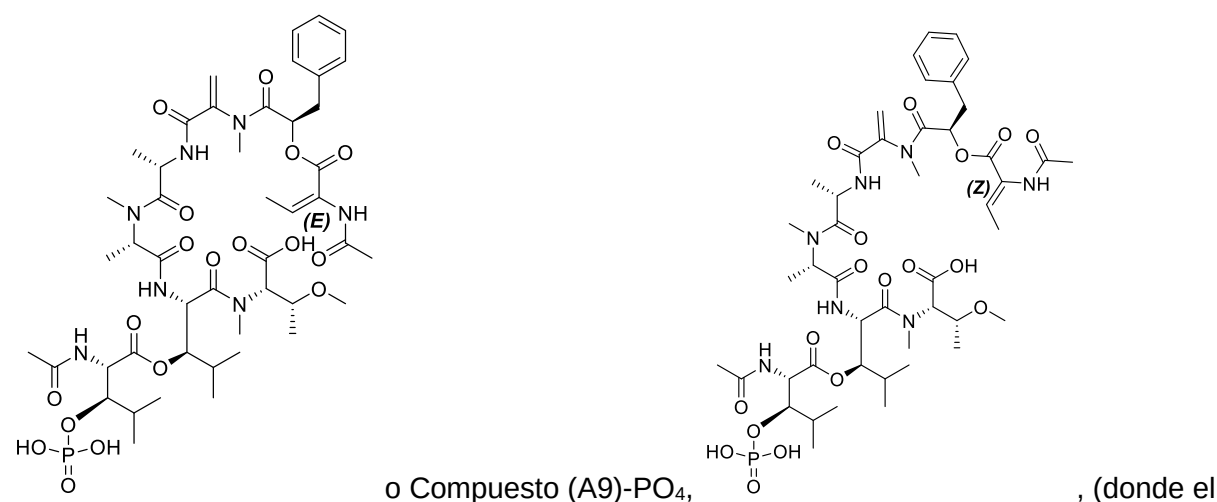
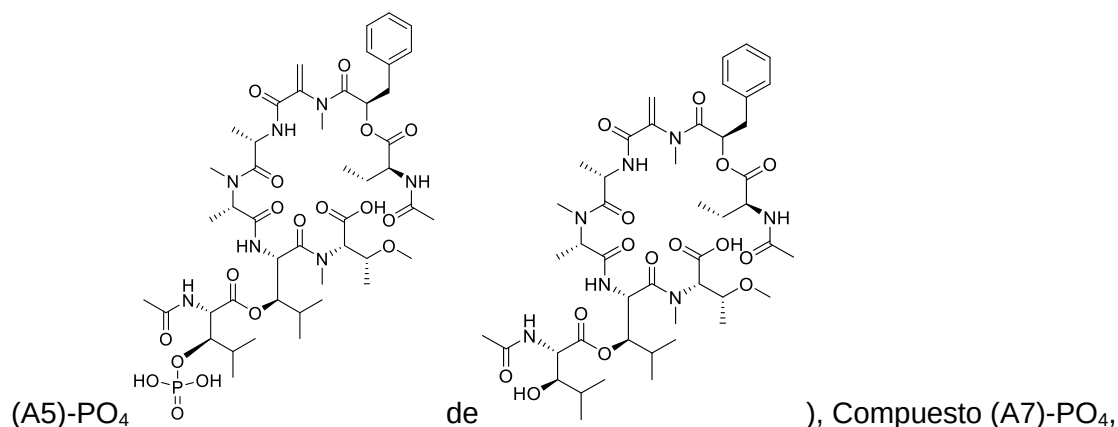
[00523] Se agregó anti-PMEL17G1_E152C_S375C_ (B2) (G1- (B2)) a 100 µg/ml en la matriz respectiva y se incubó a 37 °C. Las muestras se recogieron a 0, 1, 2 y 4 h por congelación rápida a -70 °C. Las alícuotas de cada muestra se inmunoprecipitaron usando perlas Capture Select FcXL y se incubaron con tampón conteniendo papaína para liberar la carga útil del ADC capturado en las perlas. La carga útil liberada fue luego analizada por HPLC MS para determinar los niveles relativos de Compuesto (A2)-PO₄ (es decir



de

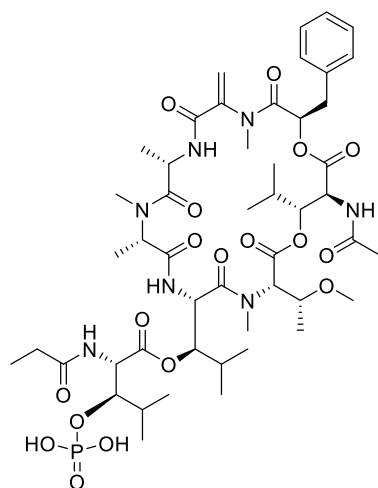
véase el Ejemplo 1.2), y el Compuesto (A2)-

PO₄ de anillo abierto que tiene la estructura del Compuesto (A5)-PO₄ (es decir el Compuesto

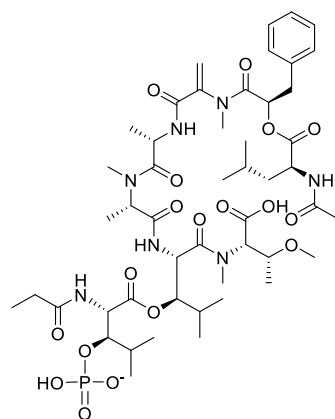


Compuesto (A2)-PO₄ de anillo abierto— carga útil inactiva). El gráfico muestra el porcentaje de carga útil liberada que estaba presente como Compuesto (A2)-PO₄ durante el desarrollo del experimento (Figura 15A).

[00524] Se agregaron anti-PMEL17G1_E152C_S375C_(B1) (G1-(B1)), Anti-PMEL17G1_E152C_(B1) (G1-E152C-DAR2-(B1)), Anti-PMEL17G1_S375C_(B1) (G1-S375C-DAR2-(B1)), y Fc-silent Anti-PMEL17G1_E152C_S375C_(B1) (G1-(B1) Fc-silent) a 100 µg/ml a la matriz respectiva y se incubaron a 37 °C. Las muestras se recogieron a 0, 2, 4, y 6 h por congelación rápida a -70 °C. Las alícuotas de cada muestra se inmunoprecipitaron usando perlas Capture Select FcXL y se incubaron con tampón conteniendo papaína para liberar la carga útil del ADC capturado en las perlas. Las cargas útiles liberadas fueron analizadas luego por HPLC MS para determinar los niveles relativos de Compuesto (A1)-PO₄,

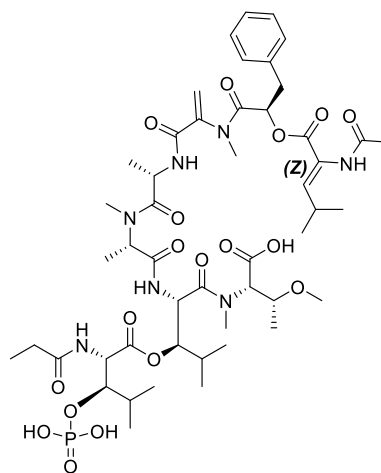
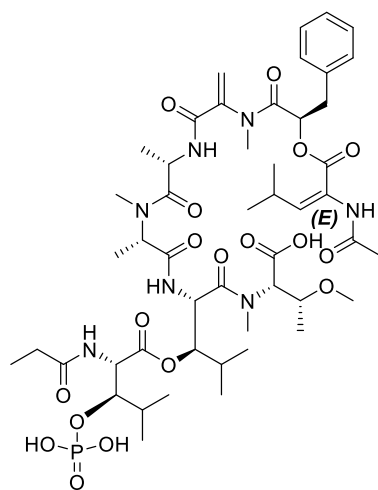


, y Compuesto (A1)-PO₄ de anillo abierto que tiene la estructura



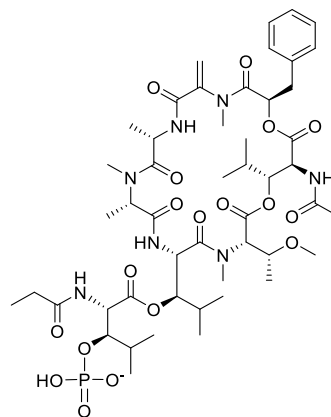
del Compuesto (A4)-PO₄,

, Compuesto (A6)-PO₄,



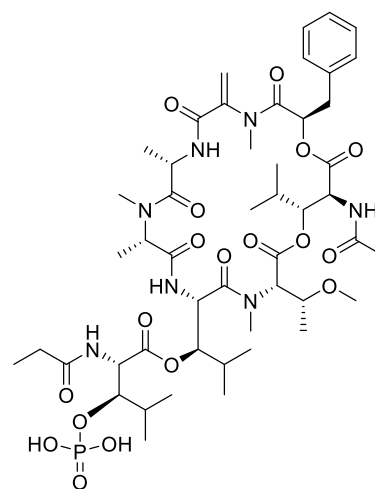
, o Compuesto (A8)-PO₄,

, (donde

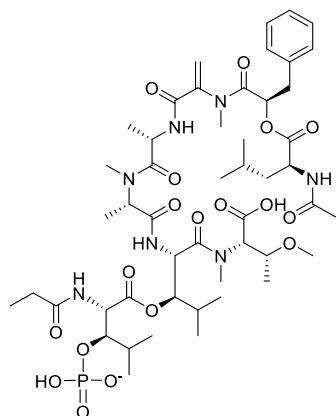


los compuestos de anillo abierto del Compuesto (A1)-PO₄, , son – carga útil inactiva). El gráfico muestra el porcentaje de carga útil liberada que estaba presente como Compuesto (A1)-PO₄ durante el desarrollo del experimento para cada una de las diferentes construcciones de ADC (Figura 15B).

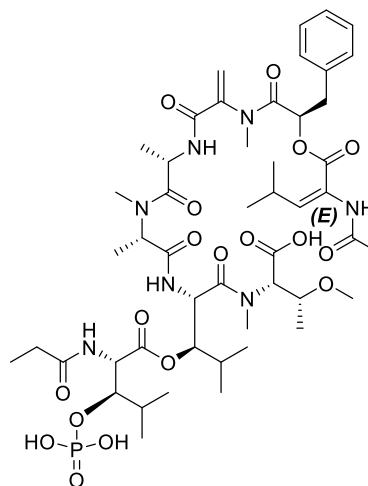
[00525] Se inyectaron respectivamente por vía intravenosa anti-PMEL17G1_E152C_S375C_(B1) (G1-(B1)), Anti-PMEL17G1_E152C_(B1) (G1-E152C-DAR2-(B1)), Anti-PMEL17G1_S375C_(B1) (G1-S375C-DAR2-(B1)), y Fc-silent Anti-PMEL17G1_E152C_S375C_(B1) (G1- (B1) Fc-silent) en ratones desnudos a 20 mg/kg (peso corporal). Nueve ratones recibieron cada una de las construcciones de ADC descritas anteriormente. Tres animales por grupo (construcción ADC) se desangraron terminalmente para recolectar muestras de suero para su análisis a las 24 h, al día 7 y día 14 después de la dosis. Las alícuotas de cada muestra se inmunoprecipitaron usando perlas Capture Select FcXL y se incubaron con tampón conteniendo papaína para liberar la carga útil del ADC capturado con las perlas. Las cargas útiles liberadas luego fueron analizadas por HPLC MS



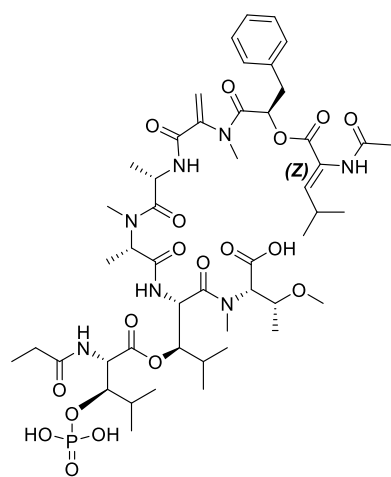
para determinar los niveles relativos de Compuesto (A1)-PO₄, , Compuesto (A1)-PO₄ de anillo abierto que tiene la estructura del Compuesto (A4)-PO₄,



, Compuesto (A6)-PO₄,



, o Compuesto



(A8)-PO₄,

, (donde los compuestos de anillo abierto del

Compuesto (A1)-PO₄ – son carga útil inactiva). El gráfico muestra el porcentaje de carga útil presente en los ADC en la forma activa del Compuesto (A1)-PO₄ (asumiendo que Compuesto (A1)-PO₄ + Compuesto (A8)-PO₄ = 100%) (Figura 15C). Los valores iniciales se estimaron en función de los resultados experimentales in vitro..

Ejemplo 20: Eficacia in vivo de G1-E152C-DAR2-(B1), G1-S375C-DAR2-(B1), G1-(B1) Fc-silent en un modelo de xenoinjerto de melanoma uveal

[00526] Se trataron ratones desnudos hembra con xenoinjertos subcutáneos de 92.1-luciferasa con 3207-E152C_S375C-DAR4- (B1), G1-E152C_S375C-DAR4- (B1), G1-E152C-DAR2- (B1), G1-S375C-DAR2- (B1), Fc-silent 3207- (B1) y Fc-silent G1-DAR4 a 7,5 mg/kg. Los tratamientos (dosis única por inyección intravenosa) se ejecutaron 17 días después de la inoculación del tumor. Los valores representan la media ± SEM; tamaño de la muestra, (n=5-6 ratones por grupo). El volumen inicial del tumor al día 0 fue de aproximadamente 300-325 mm³. (Figura 16). G1-E152C-DAR2-(B1), Fc-silent G1-DAR4, y G1-E152C_S375C-DAR4-(B1) exhiben una actividad antitumoral comparable en el modelo de xenoinjerto 92.1 de melanoma

uveal, mientras que los ADC G1-S375C-DAR2-(B1) y 3207 no dirigido no ejercen ningún efecto sobre el crecimiento tumoral.

Ejemplo 21: Actividad in vitro de G1-3J-DAR4-(B1), G1-3R-DAR4-(B1), G1-DAR4-(B1), G1-3J-DAR2 (E152C)-(B1), Fc Silent G1-3J -DAR2 (E152C)-(B1), 3207-DAR2 (E152C)-(B1), y G1-DAR2 (E152C)-(B1)

[00527] En la Figura 17A, se sembraron células 92.1 (panel izquierdo) y MP41 (panel derecho) a baja densidad celular en placas de 96 pocillos y se trataron con concentraciones crecientes de G1-3J-DAR4-(B1), G1-3R-DAR4-(B1), G1-DAR4-(B1) según lo indicado. Después del tratamiento farmacológico durante 96 o 120 horas, la viabilidad celular y la proliferación se determinaron usando un ensayo de viabilidad basado en resazurina. Brevemente, las células se incubaron con una solución basada en resazurina y el cambio de color se detectó mediante absorbancia con un espectrofotómetro y se usó como una lectura de la viabilidad celular. Los datos se presentan como la media de tres réplicas independientes y en relación con células tratadas con PBS (control). El valor GI₅₀ (es la concentración para el 50% de la inhibición máxima de la proliferación celular) para cada ADC y línea celular se indica en la Tabla 9. Los ADCs anti-PMEL17-(B1) inhiben la proliferación de células de melanoma uveal dependiendo de PMEL17 y la dosis.

Tabla 9. Actividad inhibitoria del crecimiento de G1-3J-DAR4-(B1), G1-3R-DAR4-(B1), G1-DAR4-(B1) en células de MU

Línea celular	G1-3J-DAR4-(B1) GI ₅₀ nM	G1-3R-DAR4-(B1) GI ₅₀ nM	G1-DAR4-(B1) GI ₅₀ nM
92.1	0,850	0,811	0,722
MP41	0,582	0,654	0,563

[00528] La Figura 17B ilustra los resultados de un ensayo de proliferación celular en una línea celular 92.1 con G1-3J-DAR2 (E152C)-(B1), Fc Silent G1-3J-DAR2 (E152C)-(B1), 3207-DAR2 (E152C)-(B1), y G1-DAR2 (E152C)-(B1) según lo descrito en Figura 17A. GI₅₀ se indica en la Tabla 10.

Tabla 10. Actividad inhibitoria del crecimiento de G1-3J-DAR2 (E152C)-(B1), Fc Silent G1-3J -DAR2 (E152C)-(B1), 3207-DAR2 (E152C)-(B1), y G1-DAR2 (E152C)-(B1) en células de MU

Línea celular	G1-3J-DAR2 (E152C)-(B1) GI ₅₀ nM	Fc Silent G1-3J -DAR2 (E152C)-(B1) GI ₅₀ nM	3207-DAR2 (E152C)-(B1) GI ₅₀ nM	G1-DAR2 (E152C)-(B1) GI ₅₀ nM
92.1	0,309	0,278	>150	0,365

Ejemplo 22: Los ADCs anti-PMEL17-(B1) inhiben el crecimiento tumoral en un modelo de ratón

[00529] Se trataron ratones desnudos hembras con xenoinjertos subcutáneos de 92.1 marcadas con luciferasa con una sola inyección intravenosa de 3207-(B1), G1-3J(E152C), G1-3J-DAR2 (E152C)-(B1), Fc Silent G1-3J-DAR2 (E152C)-(B1), G1-DAR2 (E152C)-(B1) o vehículo a las dosis indicadas. El tratamiento (dosis única por inyección i.v.) se realizó 14-17 días después de la inoculación del tumor. Los valores son media $\pm$ SEM; tamaño de la muestra, (n=5-12 ratones por grupo). El volumen inicial del tumor al día 0 fue de aproximadamente 200-250 mm³. G1-3J-DAR2 (E152C)-(B1) y Fc Silent G1-3J-DAR2 (E152C)-(B1) inhibieron el crecimiento tumoral de una manera dependiente de la dosis (Figura 18).

Ejemplo 23: Análisis inmunohistoquímico de biopsias de tumores de pacientes con melanoma metastásico uveal

[00530] Los tumores se fijaron en formalina tamponada neutra al 10% (vol/vol) durante 24 horas a temperatura ambiente, luego se enjuagaron en PBS, se procesaron para deshidratación, se aclararon y se incorporaron en parafina. Se prepararon secciones de 3 μ m y se procesaron para inmunohistoquímica. La tinción inmunohistoquímica se realizó en secciones de tejido fijadas con formalina e incorporadas en parafina usando un sistema Bond-RX (Leica) totalmente automatizado para la tinción anti-gp100 (PMEL17) (HMB45 monoclonal de ratón). Las muestras uveales de melanoma metastásico exhiben una expresión alta y relativamente homogénea de PMEL17 (Figura 19A). Cuantificación de los niveles de expresión de PMEL17 y la proporción de células positivas para PMEL17 en muestras de pacientes con melanoma metastásico uveal (Figura 19B, Figura 19C).

Ejemplo 24: Ensayo de unión competitiva

[00531] SPR se usó para evaluar el agrupamiento de epítopos para anticuerpos anti-PMEL en un instrumento Biacore T200 (# de catálogo 28975001, GE Healthcare Life Sciences).

[00532] La resonancia de plasmón superficial (SPR) es una técnica para medir las interacciones bimoleculares en tiempo real en un entorno sin etiquetas. Las moléculas se

inmovilizan en una superficie del sensor sobre la que fluye una solución de muestra. La interacción entre la molécula inmovilizada y la muestra que fluye provoca un cambio en el índice de refracción. El cambio del índice de refracción es una alteración del ángulo en el que la luz polarizada de intensidad reducida se refleja desde el plano de vidrio de soporte. Este cambio de ángulo es causado por la unión o disociación de las moléculas de la superficie del sensor y es proporcional a la masa del material unido y es registrado por el instrumento en un sensorgrama. El sensorgrama muestra una respuesta creciente a medida que las moléculas interactúan, la respuesta permanece constante si la interacción alcanza el equilibrio, y la respuesta disminuye a medida que la muestra se reemplaza por tampón y los socios de interacción se disocian. A partir de las respuestas de los eventos de asociación y disociación, se determina una tasa de asociación (k_a), una tasa de disociación (k_d) y una afinidad general (KD). Para el agrupamiento de epítomos, las KD no están determinadas.

[00533] En el primer paso, los anticuerpos G1 LC 3J y 17A9 se inmovilizaron directamente en una superficie de un chip CM5 a través del acoplamiento de amina para lograr aproximadamente 2000RU respectivamente en Fc2 y Fc3. La célula de flujo 1 no tenía un anticuerpo inmovilizado sobre la misma y sirvió como la Fc de referencia. Los anticuerpos inmovilizados en Fc2 y Fc3 son los anticuerpos básicos en el experimento.

[00534] Después de la inmovilización, la PMEL humana fluyó durante el segundo paso a 20 nM sobre todas las células de flujo durante 60 segundos a 30 ul/min.

[00535] El tercer y último paso tiene el anticuerpo G1 LC 3J solo o el anticuerpo G1 LC 3J más el anticuerpo 17A9 que fluye sobre Fc2 o el anticuerpo 17A9 solo o el anticuerpo 17A9 más el anticuerpo G1 LC 3J que fluye sobre Fc3 (Figura 20A). Los anticuerpos fluyeron a una concentración total de 500 nM sobre ambas células de flujo durante 120 segundos a 30 ul/min para la asociación, a lo que siguió una fase de disociación de 120 segundos a 30 ul/min con tampón en circulación.

[00536] Según lo esperado, cuando G1 LC 3J fue el anticuerpo base, no se observó señal de agrupamiento cuando G13J fluyó. Se observó la unión de 100RU cuando se hizo fluir 17A9, lo que sugiere que es un epítomo diferente de G1 LC 3J (Figura 20B). Se observaron tendencias similares cuando 17A9 fue el anticuerpo base. En el paso 3, no se observó unión consigo mismo, sino cuando fluyó G1 LC 3J (Figura 20C). Esto indicó que G1 LC 3J y 17A9 se unen a diferentes epítomos.

[00537] La regeneración se ejecutó al final de cada ciclo en todas las células. El tampón de regeneración fue Glycine 2.0 que fluyó a 30 µl/min durante 30 segundos.

[00538] Los datos fueron analizados usando el Software de Evaluación Biacore T200 versión 3.0.

[00539] Se entiende que los ejemplos y formas de realización descritos en la presente tienen un carácter meramente ilustrativo y que diversas modificaciones o cambios a la luz de los mismos serán evidentes para los expertos en la materia y caen dentro del espíritu y alcance de la solicitud y las reivindicaciones adjuntas.