

ANTICUERPOS DIRIGIDOS A FLT3 Y USO DE LOS MISMOS

[0001] Esta solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud Provisional de Estados Unidos No. 62 / 915.120, presentada el 15 de octubre de 2019, la totalidad de la cual se incorpora aquí como referencia.

LISTADO DE SECUENCIAS

[0002] Esta aplicación incorpora por referencia en su totalidad el Formulario de lectura por computadora (CRF) de un Listado de secuencias en formato de texto ASCII. El archivo de texto de Listado de secuencias se titula “14247-473-888_SEQ_LISTING”, se creó el 5 de octubre de 2020 y tiene un tamaño de 152,327 bytes.

CAMPO DE LA INVENCION

[0003] La invención proporciona proteínas con dominios variables de cadena pesada y cadena ligera de anticuerpos que se pueden emparejar para formar un sitio de unión a antígeno dirigido a FLT3 en una célula, composiciones farmacéuticas que comprenden dichas proteínas y métodos terapéuticos que utilizan dichas proteínas y composiciones farmacéuticas, incluso para el tratamiento de cáncer.

ANTECEDENTES

[0004] El cáncer sigue siendo un problema de salud importante a pesar de los importantes esfuerzos de investigación y los avances científicos reportados en la literatura para tratar esta enfermedad. Algunos de los cánceres diagnosticados con mayor frecuencia en adultos incluyen cáncer de próstata, cáncer de mama y cáncer de pulmón. Las neoplasias hematológicas, aunque menos frecuentes que los cánceres sólidos, tienen tasas de supervivencia bajas. Las opciones de tratamiento actuales para estos cánceres no son efectivas para todos los pacientes y/o pueden tener efectos secundarios adversos sustanciales. Otros tipos de cáncer también siguen siendo difíciles de tratar con las opciones terapéuticas existentes.

[0005] La tirosina quinasa 3 relacionada con Fms (FLT3), también llamada FLK2, STK1 o CD135, es un receptor de tirosina quinasa de clase III. FLT3 es una proteína transmembrana que incluye cinco dominios similares a inmunoglobulinas en la región extracelular. FLT3 se puede activar mediante la unión de FLT3LG, que induce la homodimerización y autofosforilación de FLT3. El FLT3 activado posteriormente fosforila y activa múltiples moléculas efectoras citoplasmáticas como Akt, Erk y mTOR, promoviendo así la proliferación celular y reduciendo la apoptosis. Se han observado mutaciones que provocan la activación constitutiva de FLT3 en la leucemia mieloide aguda y la leucemia linfoblástica aguda.

[0006] Aunque se están desarrollando anticuerpos que se unen a FLT3, todavía existe una necesidad en el campo de tratamientos nuevos y útiles para el cáncer relacionado con FLT3.

SINOPSIS DE LA INVENCION

[0007] La presente invención proporciona sitios de unión a antígeno que se unen a FLT3 humano y opcionalmente se unen a FLT3 de cynomolgus. Estos sitios de unión al antígeno se unen a varios epítomos en un dominio extracelular de FLT3, y algunos de ellos no compiten con el ligando FLT3 (FLT3L) por dicha unión. Algunos de los sitios de unión a antígeno descritos en el presente documento se unen a epítomos únicos en comparación con los epítomos dirigidos por uno o más anticuerpos anti-FLT3 conocidos en la técnica. Proteínas y conjugados de proteínas que contienen dichos sitios de unión a antígenos, por ejemplo, anticuerpos, conjugados de anticuerpo-fármaco, activadores de células T biespecíficas (BiTE) e inmunocitocinas, así como células efectoras inmunitarias (p. ej., Células T) que expresan una proteína que contiene dicho sitio de unión al antígeno (p. ej., un receptor de antígeno quimérico (CAR)), son útiles para tratar enfermedades asociadas a FLT3 tales como cáncer.

[0008] Por consiguiente, en un aspecto, la presente invención proporciona un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3, que comprende:

(a) un dominio variable de cadena pesada (VH) que comprende la región determinante de complementariedad 1 (CDR1), la región determinante de complementariedad 2 (CDR2) y la región determinante de complementariedad 3 (CDR3) que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11 , 4 y 55, respectivamente; y

(b) un dominio variable de cadena ligera (VL) que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente.

[0009] En determinadas modalidades, la CDR3 de VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5. En determinadas modalidades, la CDR3 de VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50. En determinadas modalidades, el VH comprende una secuencia de aminoácidos idéntica al menos en un 90 % a la SEC ID NO: 37, y la VL comprende una secuencia de aminoácidos idéntica al menos en un 90 % a la SEC ID NO: 38. En determinadas modalidades, VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42. En determinadas modalidades, VH y VL comprenden las secuencias de

aminoácidos de las SEQ ID NO: 9 y 10;13 y 10;17 y 10;9 y 22;9 y 26;9 y 30;9 y 34;37 y 38;41 y 42;45 y 42;o 49 y 42, respectivamente.

[0010] En otro aspecto, la presente invención proporciona un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3, que comprende:

(a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 59, 63 y 54, respectivamente; y

(b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 86, 66 y 67, respectivamente.

[0011] En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de SEQ ID NO: 78, 63, 79, respectivamente, y el VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de SEQ ID NO: 80, 66, 67, respectivamente. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de SEQ ID NO: 62, 63, 64, respectivamente, y el VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de SEQ ID NO: 65, 66, 67. En determinadas modalidades, el VH comprende una secuencia de aminoácidos idéntica al menos en un 90 % a la SEC ID NO: 76, y la VL comprende una secuencia de aminoácidos idéntica al menos en un 90 % a la SEC ID NO: 77. En determinadas modalidades, VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29, y VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 84. En determinadas modalidades, VH y VL comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 y 69;72 y 73;o 76 y 77, respectivamente.

[0012] En otro aspecto, la presente invención proporciona un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3, que comprende:

(a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 87, 88 y 89, respectivamente; y

(b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 91, 92 y 93, respectivamente.

[0013] En otro aspecto, la presente invención proporciona un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3, que comprende:

(a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 97, 99 y 100, respectivamente; y

(b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 101, 102 y 103, respectivamente.

[0014] En otro aspecto, la presente invención proporciona un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3, que comprende:

(a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias

de aminoácidos de las SEQ ID NO: 87, 98 y 89 respectivamente; y

(b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 106, 92 y 93, respectivamente.

[0015] En otro aspecto, la presente invención proporciona un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3, que comprende:

(a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 109, 110 y 111, respectivamente; y

(b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 112, 113 y 114, respectivamente.

[0016] En otro aspecto, la presente invención proporciona un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3, que comprende:

(a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 117, 118 y 119, respectivamente; y

(b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 120, 121 y 122, respectivamente.

[0017] En otro aspecto, la presente invención proporciona un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3, que comprende:

(a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 87, 98 y 89, respectivamente; y

(b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 106, 92 y 93, respectivamente.

[0018] En otro aspecto, el presenteLa invención proporciona un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3, que comprende:

(a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 62, 33 y 127, respectivamente; y

(b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 128, 129 y 130, respectivamente.

[0019] En otro aspecto, la presente invención proporciona un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3, que comprende:

(a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 132, 133 y 134, respectivamente; y

(b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 65, 66 y 46, respectivamente.

[0020] En otro aspecto, la presente invención proporciona un sitio de unión a

antígeno que compite con un sitio de unión a antígeno descrito anteriormente.

[0021] En determinadas modalidades de los aspectos anteriores, el sitio de unión al antígeno se une a FLT3 humano con una constante de disociación (K_D) menor o igual a 20 nM medido por resonancia de plasmón de superficie (SPR). En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno se une a FLT3 humano con una K_D menor o igual a 10 nM medido por SPR. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno se une a una variante de FLT3 humana que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno se une a una variante de FLT3 humana que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno se une al cynomolgus FLT3. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno no compite con FLT3L por la unión a FLT3.

[0022] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno está presente como un fragmento variable de cadena sencilla (scFv). En ciertas modalidades, el scFv comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEC ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81 y 82.

[0023] En otro aspecto, la presente invención proporciona una proteína que comprende un sitio de unión a antígeno descrito en el presente documento. En determinadas modalidades, la proteína comprende además una región constante de cadena pesada de anticuerpo. En determinadas modalidades, la región constante de la cadena pesada del anticuerpo es una región constante de la cadena pesada de la IgG humana. En determinadas modalidades, la región constante de la cadena pesada del anticuerpo es una región constante de la cadena pesada de IgG1 humana. En determinadas modalidades, cada cadena polipeptídica de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo comprende una secuencia de aminoácidos idéntica al menos en un 90 % a la SEQ ID NO: 21.

[0024] En ciertas modalidades, al menos una cadena polipeptídica de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo comprende una o más mutaciones, con respecto a la SEC ID NO: 21, en una o más posiciones seleccionadas de Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 y K439, numerados según el sistema de numeración de la UE. En determinadas modalidades, al menos una cadena polipeptídica de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo comprende una o más mutaciones, en relación con la SEC ID NO: 21, seleccionadas de Q347E, Q347R, Y349S, Y349K, Y349T, Y349D, Y349E, Y349C, L351K, L351D, L351Y, S354C, E356K, E357Q, E357L, E357W, K360E, K360W, Q362E, S364K, S364E, S364H, S364D, T366V, T366I, T366L, T366M, T366K,

T366W, T366S, L368E, L368A, L368D, K370S, N390D, N390E, K392L, K392M, K392V, K392F, K392D, K392E, T394F, D399R, D399K, D399V, S400K, S400R, D401K, F405A, F405T, Y407A, Y407I, Y407V, K409F, K409W, K409D, T411D, T411E, K439D y K439E, numerados según el sistema de numeración de la UE. En determinadas modalidades, una cadena polipeptídica de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo comprende una o más mutaciones, en relación con la SEQ ID NO: 21, en una o más posiciones seleccionadas de Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 y K439; y la otra cadena polipeptídica de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo comprende una o más mutaciones, con respecto a SEQ ID NO: 21, en una o más posiciones seleccionadas de Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, D401, F405, Y407, K409, T411 y K439, numerados según el sistema de numeración de la UE. En determinadas modalidades, una cadena polipeptídica de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo comprende sustituciones de K360E y K409W con respecto a la SEQ ID NO: 21; y la otra cadena polipeptídica de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo comprende sustituciones de Q347R, D399V y F405T con respecto a la SEQ ID NO: 21, numeradas según el sistema de numeración de la UE. En determinadas modalidades, una cadena polipeptídica de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo comprende una sustitución Y349C con respecto a la SEQ ID NO: 21; y la otra cadena polipeptídica de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo comprende una sustitución S354C con respecto a la SEQ ID NO: 21, numerada según el sistema de numeración de la UE.

[0025] En otro aspecto, la presente invención proporciona un conjugado anticuerpo-fármaco que comprende una proteína descrita en el presente documento y un resto de fármaco. En determinadas modalidades, el resto de fármaco se selecciona del grupo que consiste en auristatina, N-acetil- γ caliqueamicina, maitansinoide, pirrolobenzodiazepina y SN-38.

[0026] En otro aspecto, la presente invención proporciona una inmunocitoquina que comprende un sitio de unión a antígeno descrito en este documento y una citoquina. En determinadas modalidades, la citoquina se selecciona del grupo que consiste en IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, IL-15, TNF e IFN α .

[0027] En otro aspecto, la presente invención proporciona un acoplador de células T biespecífico que comprende un sitio de unión a antígeno descrito en el presente documento y un sitio de unión a antígeno que se une a CD3.

[0028] En otro aspecto, la presente invención proporciona un receptor de antígeno quimérico (CAR) que comprende:

- (a) el sitio de unión al antígeno descrito en este documento;
- (b) un dominio transmembrana; y
- (c) un dominio de señalización intracelular.

[0029] En determinadas modalidades, el dominio transmembrana se selecciona de las regiones transmembrana de la cadena alfa, beta o zeta del receptor de células T, CD28, CD3 epsilon, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, FLT3, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD152 y CD154. En determinadas modalidades, el dominio de señalización intracelular comprende un dominio de señalización primario que comprende un dominio de señalización funcional de CD3 zeta, FcR gamma común (FCER1G), Fc gamma RIIa, FcR beta (Fc Epsilon R1b), CD3 gamma, CD3 delta, CD3 epsilon, CD79a, CD79b, DAP10 y DAP12. En determinadas modalidades, el dominio de señalización intracelular comprende además un dominio de señalización coestimulador que comprende un dominio de señalización funcional de un receptor coestimulador. En ciertas modalidades, el receptor coestimulador se selecciona del grupo que consiste en OX40, CD27, CD28, CD30, CD40, PD-1, CD2, CD7, CD258, NKG2C, B7-H3, un ligando que se une a CD83, ICAM-1, LFA-1 (CD11a / CD18), ICOS y 4-1BB (CD137), o cualquier combinación de los mismos.

[0030] En otro aspecto, la presente invención proporciona un ácido nucleico aislado que codifica un CAR descrito en el presente documento.

[0031] En otro aspecto, la presente invención proporciona un vector de expresión que comprende un ácido nucleico aislado descrito en este documento.

[0032] En otro aspecto, la presente invención proporciona una célula efectora inmunitaria que comprende un ácido nucleico o vector de expresión descrito en el presente documento.

[0033] En otro aspecto, la presente invención proporciona una célula efectora inmunitaria que expresa un CAR descrito en el presente documento. En determinadas modalidades, la célula efectora inmunitaria es una célula T. En determinadas modalidades, la célula T es un CD8⁺ Célula T, un CD4⁺ Célula T o una célula NKT. En determinadas modalidades, la célula efectora inmunitaria es una célula NK.

[0034] En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una proteína, un conjugado de anticuerpo-fármaco, inmunocitocina, activador de células T biespecíficas o célula efectora inmunitaria descrita en el presente documento; y un portador farmacéuticamente aceptable.

[0035] En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar el cáncer, comprendiendo el método administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz de una proteína, conjugado anticuerpo-fármaco, inmunocitoquina, activador de células T biespecíficas, células efectoras inmunitarias o fármacos composición descrita en el presente documento.

[0036] En determinadas modalidades, el cáncer es una neoplasia maligna hematológica. En ciertas modalidades, la neoplasia maligna hematológica es leucemia. En determinadas modalidades, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en leucemia mieloide aguda (AML), leucemia linfoblástica aguda (ALL), mielodisplasia, leucemia linfoblástica T aguda y leucemia promielocítica aguda. En determinadas modalidades, el cáncer expresa FLT3.

[0037] Estos y otros aspectos y ventajas de la invención se ilustran mediante las siguientes figuras, descripción detallada y reivindicaciones.

DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS/FIGURAS

[0038] La invención puede entenderse más completamente con referencia a los siguientes dibujos.

[0039] **FIG. 1** es un conjunto de sensogramas que muestran perfiles SPR de anticuerpos recogidos de los sobrenadantes de hibridomas murinos que se unen a hFLT3.

[0040] **FIG. 2** es un conjunto de sensogramas que muestran perfiles SPR de anticuerpos recogidos de los subclones de mAb murinos que se unen a hFLT3.

[0041] **FIG. 3** es un gráfico de barras que representa la reducción de la capacidad de los anticuerpos candidatos para unirse a las células cancerosas EOL-1 que expresan FLT3 mediante concentraciones saturadas de ligando FLT3 soluble.

[0042] **FIG. 4A-4C** son gráficos de líneas que muestran la unión del anticuerpo anti-FLT3 1158 a las líneas celulares que expresan FLT3 RMA-hFLT3 (**FIG. 4A**), RMA-cFLT3 (**FIG. 4B**) y REH (**FIG. 4C**).

[0043] **FIG. 5** es un gráfico de líneas que muestra la unión del anticuerpo anti-FLT3 1158 a las células MOLM-13, que expresaban FLT3 con la mutación T227M.

[0044] **FIG. 6A-6D** son gráficos de barras que muestran la lisis mediada por células NK de las líneas de células cancerosas que expresan FLT3 EOL-1 (**FIG. 6A**), REH (**FIG. 6B**), RS4-11 (**FIG. 6C**) y MV4-11 (**FIG. 6D**) en presencia de TriNKET F3'-1158 y su anticuerpo monoclonal parental.

[0045] **FIG. 7A-7B** son gráficos de barras que muestran la fosforilación de FLT3 por

TriNKET F3'-1158 y su anticuerpo monoclonal parental en ausencia (**FIG. 7A**) o presencia (**FIG. 7B**) del ligando FLT3. La muestra de ligando FLT3 en la FIG. 7A sirve como control positivo.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0046] La presente invención proporciona sitios de unión a antígeno que se unen a FLT3 humano y opcionalmente se unen a FLT3 de cynomolgus. Estos sitios de unión a antígeno se unen a varios epítomos en un dominio extracelular de FLT3, y algunos de estos sitios de unión a antígenos no compiten con el ligando FLT3 (FLT3L) por dicha unión. Proteínas y conjugados de proteínas que contienen dichos sitios de unión a antígenos, por ejemplo, anticuerpos, conjugados de anticuerpo-fármaco, activadores de células T biespecíficas (BiTE) e inmunocitocinas, así como células efectoras inmunitarias (p. ej., Células T) que expresan una proteína que contiene dicho sitio de unión al antígeno (p. ej., un receptor de antígeno quimérico (CAR)), son útiles para tratar enfermedades asociadas a FLT3 tales como cáncer.

[0047] La presente invención proporciona proteínas de unión a antígenos que se unen FLT3 sobre una célula cancerosa y composiciones farmacéuticas que comprenden tales proteínas, y métodos terapéuticos que usan tales proteínas y composiciones farmacéuticas, incluso para el tratamiento del cáncer. En las secciones siguientes se exponen varios aspectos de la presente invención; sin embargo, los aspectos de la invención descritos en una sección particular no deben limitarse a ninguna sección particular.

[0048] Para facilitar la comprensión de la presente invención, a continuación se definen varios términos y frases.

[0049] Los términos "un" y "una" como se usan en este documento significan "uno o más" e incluyen el plural a menos que el contexto sea inapropiado.

[0050] Como se usa en este documento, el término "sitio de unión al antígeno" se refiere a la parte de la molécula de inmunoglobulina que participa en la unión al antígeno. En los anticuerpos humanos, el sitio de unión al antígeno está formado por residuos de aminoácidos de las regiones variables N-terminales ("V") de las cadenas pesada ("H") y ligera ("L"). Tres tramos muy divergentes dentro de las regiones V de las cadenas pesada y ligera se denominan "regiones hipervariables" que se interponen entre tramos flanqueantes más conservados conocidos como "regiones marco" o "FR". Por tanto, el término "FR" se refiere a secuencias de aminoácidos que se encuentran naturalmente entre y adyacentes a regiones hipervariables en inmunoglobulinas. En una molécula de anticuerpo humano, las tres regiones hipervariables de una cadena ligera y las tres regiones hipervariables de una

cadena pesada están dispuestas entre sí en un espacio tridimensional para formar una superficie de unión al antígeno. La superficie de unión al antígeno es complementaria a la superficie tridimensional de un antígeno unido, y las tres regiones hipervariables de cada una de las cadenas pesada y ligera se denominan "regiones determinantes de complementariedad" o "CDR". En ciertos animales, como los camellos y los peces cartilaginosos, el sitio de unión al antígeno está formado por una única cadena de anticuerpos que proporciona un "anticuerpo de dominio único". Los sitios de unión al antígeno pueden existir en un anticuerpo intacto, en un fragmento de unión al antígeno de un anticuerpo que retiene la superficie de unión al antígeno, o en un polipéptido recombinante como un scFv, usando un enlazador peptídico para conectar el dominio variable de la cadena pesada a el dominio variable de la cadena ligera en un solo polipéptido. Todas las posiciones de aminoácidos en las regiones variables de cadena pesada o ligera descritas en el presente documento están numeradas según la numeración de Kabat.

[0051] Las CDR de un sitio de unión a antígeno se pueden determinar mediante los métodos descritos en Kabat *et al.*, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) y Kabat *et al.*, Secuencias de proteína de interés inmunológico.(1991), Chothia y col., J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987) y MacCallum y col., J. Mol. Biol. 262: 732 - 745 (1996). Las CDR determinadas bajo estas definiciones típicamente incluyen superposiciones o subconjuntos de residuos de aminoácidos cuando se comparan entre sí. En determinadas modalidades, el término "CDR" es una CDR como la definen MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996) y Martin A., Secuencia de proteínas y análisis de estructura de dominios variables de anticuerpos, en Antibody Engineering, Kontermann y Dubel, eds., Capítulo 31, págs. 422-439, Springer-Verlag, Berlín (2001). En determinadas modalidades, el término "CDR" es una CDR como la definen Kabat *et al.*, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) y Kabat *et al.*, Secuencias de proteína de interés inmunológico.(1991). En determinadas modalidades, las CDR de cadena pesada y las CDR de cadena ligera de un anticuerpo se definen usando diferentes convenciones. Por ejemplo, en determinadas modalidades, las CDR de cadena pesada se definen según MacCallum (*supra*), y las CDR ligeras se definen según Kabat (*supra*).CDRH1, CDRH2 y CDRH3 denotan las CDR de cadena pesada, y CDRL1, CDRL2 y CDRL3 denotan las CDR de cadena ligera.

[0052] Como se usa en este documento, los términos "sujeto" y "paciente" se refieren a un organismo a ser tratado mediante los métodos y composiciones descritos en este documento. Tales organismos preferiblemente incluyen, pero no se limitan a, mamíferos (p.

ej., murinos, simios, equi-nos, bovinos, porcinos, caninos, felinos y similares), y más preferiblemente incluyen humanos.

[0053] Como se usa en este documento, el término "cantidad efectiva" se refiere a la cantidad de un compuesto (p. ej., un compuesto de la presente invención) suficiente para lograr resultados beneficiosos o deseados. Se puede administrar una cantidad efectiva en una o más administraciones, aplicaciones o dosis y no se pretende que se limite a una formulación o vía de administración particular. Como se usa en este documento, el término "tratamiento" incluye cualquier efecto, p. ej., disminuir, reducir, modular, mejorar o eliminar, que da como resultado la mejora de la afección, enfermedad, trastorno y similares, o mejorar uno de sus síntomas.

[0054] Como se usa en este documento, el término "composición farmacéutica" se refiere a la combi-nación de un agente activo con un vehículo, inerte o activo, lo que hace que la composición sea especialmente adecuada para uso diagnóstico o terapéutico. *in vivo* o *ex vivo*.

[0055] Como se usa en el presente documento, el término "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquiera de los vehículos farmacéuticos estándar, como una solución salina tamponada con fosfato, agua, emulsiones (p. ej., como emulsiones de aceite/agua o agua/aceite) y varios tipos de agentes humectantes. Las composiciones también pueden incluir estabilizantes y conservantes. Para ejemplos de vehículos, estabilizadores y adyuvantes, ver p. ej., Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15ª Ed., Mack Publ. Co., Easton, PA [1975].

[0056] Como se usa en este documento, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquier sal farmacéuticamente aceptable (p. ej., ácido o base) de un compuesto de la presente invención que, tras la administración a un sujeto, es capaz de proporcionar un compuesto de esta invención o un metabolito activo o residuo del mismo. Como saben los expertos en la técnica, las "sales" de los compuestos de la presente invención pueden derivarse de ácidos y bases inorgánicos u orgánicos. Los ácidos ejemplares incluyen, pero no se limitan a, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico, perclórico, fumárico, maleico, fosfórico, glicólico, láctico, salicílico, succínico, tolueno-p-sulfónico, tartárico, acético, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, fórmico, benzoico, malónico, naftaleno-2-sulfónico, ácido bencenosulfónico y similares. Otros ácidos, tales como el oxálico, aunque no son farmacéuticamente aceptables en sí mismos, pueden emplearse en la preparación de sales útiles como intermediarios para obtener los compuestos de la presente invención y sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables.

[0057] Las bases ejemplares incluyen, pero no se limitan a, metales alcalinos (p. ej., sodio) hidróxidos, metales alcalinotérreos (p. ej., magnesio) hidróxidos, amoníaco y compuestos de fórmula NW_4^+ , donde W es C_{1-4} alquilo y similares.

[0058] Las sales ejemplares incluyen, pero no se limitan a: acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, canforato, canforsulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, flutoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hidrocloruro hidrobromuro, hidroyoduro, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, oxalato, palmoato, pectinato, persulfato, fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, tosilato, undecanoato y similares. Otros ejemplos de sales incluyen aniones de los compuestos de la presente invención compuestos con un catión adecuado como Na^+ , NH_4^+ y NW_4^+ (donde W es una C_{1-4} grupo alquilo) y similares.

[0059] Para uso terapéutico, se contempla que las sales de los compuestos de la presente invención sean farmacéuticamente aceptables. Sin embargo, las sales de ácidos y bases que no son farmacéuticamente aceptables también pueden encontrar uso, por ejemplo, en la preparación o purificación de un compuesto farmacéuticamente aceptable.

[0060] Tal como se usa en el presente documento, "FLT3" (también conocido como FLK2, STK1 o CD135) se refiere a la proteína de Uniprot Accession No.P36888 e isoformas relacionadas.

[0061] Como se usa en este documento, "FLT3L" (también conocido como ligando FLT3) se refiere a la proteína de Uniprot Accession No.P49771 e isoformas relacionadas.

[0062] A lo largo de la descripción, cuando se describe que las composiciones tienen, incluyen o comprenden componentes específicos, o cuando se describen procesos y métodos que tienen, que incluyen o comprenden etapas específicas, se contempla que, además, hay composiciones de la presente invención que consisten esencialmente en, o consisten en, los componentes enumerados, y que existen procesos y métodos de acuerdo con la presente invención que consisten esencialmente en, o consisten en, las etapas de procesamiento enumeradas.

[0063] Como cuestión general, las composiciones que especifican un porcentaje son en peso a menos que se especifique lo contrario. Además, si una variable no está acompañada de una definición, entonces la definición previa de la variable controla.

[0064] Varias características y aspectos de la invención se comentan con más detalle a continuación.

I. Sitio de unión al antígeno

[0065] En un aspecto, la presente invención proporciona un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 humano. Las secuencias VH, VL, CDR y scFv de sitios de unión a antígenos ejemplares se enumeran en la Tabla 1. Las secuencias de CDR se identifican según el esquema de numeración de Chothia.

Tabla 1: Secuencias de sitios de unión a antígenos ejemplares que se unen a FLT3

Clon	VH	VL
12H10.G7	EVQLQESGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTRYVMHWVKQRPGQGLEWIGFINPYNDDTKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYHRCARWRQLGSLDSWGQGTTTLTVSS [SEQ ID NO:1] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSRSDFTLTIDPVEADDAATYYCQQNNEEPWTFGGGGTKLEIK [SEQ ID NO:2] CDR1: RASESVDTYGSSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
Humanizado 12H10. G7 GB87/GB95 (mutaciones posteriores en VH y VL subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYHRCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSS [SEQ ID NO:9] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRSDFTLTISLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGGGGTKVEIK [SEQ ID NO:10] CDR1: RASESVDTYGSSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
scFv de 12H10 humanizado. G7 GB87/GB95	GB87 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYHRCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGGSDIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRSDFTLTISL	

Clon	VH	VL
	QAEDAATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:3] GB95 (VL-VH): DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDAATYY CQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQ LVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLE WMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSED AVYHCARWRQLGSLDSWGQGT TVTVSS [SEQ ID NO:12]	
Humanizado 12H10. G7 GB88/GB96 (mutaciones posteriores en VH y VL subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQ APGQRLEWMGFINPYNDDTK YNEKFKGRVTITRDTSASTAY MELSSLRSED TAVYH CARWR QLGSLDSWGQGT TVTVSS [SEQ ID NO:13] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSG SGSRTDFTLTISSLQAEDAATYY CQQNNEEPWTFGGGTKVEIK [SEQ ID NO:10] CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
scFv de 12H10 humanizado. G7 GB88/GB96	GB88 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVRQAPG QCLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSL RSED TAVYH CARWRQLGSLDSWGQGT TVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSDIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSF VHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSL QAEDAATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:15] GB96 (VL-VH): DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDAATYY CQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQ LVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLE WMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSED TAVYH CARWRQLGSLDSWGQGT TVTVSS	

Clon	VH	VL
	[SEQ ID NO:16]	
Humanizado 12H10. G7 GB89/GB97 (mutaciones posteriores en VH y VL subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQ APGQRLEWMGFINPYNDDTK YNEKFKGRVTITSDTSASTAY MELSSLRSED ~~T~~ AVYYCARWR QLGLSDSWGQGT ~~T~~ TVTVSS [SEQ ID NO:17] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGLSDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPASLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSG SGSRTDFTLTISLQAEDAATYY CQQNNEEPWTFGGG ~~T~~ KVEIK [SEQ ID NO:10] CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
scFv de 12H10 humanizado. G7 GB89/GB97	GB89 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQAPG QCLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSL RSED ~~T~~ AVYYCARWRQLGLSDSWGQGT ~~T~~ TVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSDIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSF VHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISL QAEDAATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:19] GB97 (VL-VH): DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDAATYY CQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQ LVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLE WMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSED ~~T~~ AVYYCARWRQLGLSDSWGQGT ~~T~~ TVTVSS [SEQ ID NO:20]	
Humanizado 12H10. G7 GB90/GB98 (mutaciones posteriores en VH y VL subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQ APGQRLEWMGFINPYNDDTK YNEKFKGRVTITSDTSASTAY MELSSLRSED ~~T~~ AVYH ~~C~~ ARWR QLGLSDSWGQGT ~~T~~ TVTVSS [SEQ ID NO:9] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSG SGSRTDFTLTISLQAEDAATYY CQQNNEEPWTFGGG ~~T~~ KVEIK [SEQ ID NO:22] CDR1: RASESVDTYGSSFVH

Clon	VH	VL
	NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	[SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
scFv de 12H10 humanizado. G7 GB90/GB98	GB90 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYHRCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDTFTLTISLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:23] GB98 (VL-VH): DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDTFTLTISLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYHRCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSS [SEQ ID NO:24]	
Humanizado 12H10. G7 GB91/GB99 (mutaciones posteriores en VH y VL subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYHRCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSS [SEQ ID NO:9] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGGTDFTLTISLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGGGTKVEIK [SEQ ID NO:26] CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
scFv de 12H10 humanizado. G7	GB91 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYHRCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSG	

Clon	VH	VL
GB91/GB99	GGGSGGGGSDIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:27] GB99 (VL-VH): DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYHCARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS [SEQ ID NO:28]	
Humanizado 12H10. G7 GB92/GB100 (mutaciones posteriores en VH y VL subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYH<u>CARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS</u> [SEQ ID NO:9] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGS<u>RTDFTLTISSLQAEDVATYYCQQNNEEPWTFGGG</u>TKVEIK [SEQ ID NO:30] CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
scFv de 12H10 humanizado. G7 GB92/GB100	GB92 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYH<u>CARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDVATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK</u> [SEQ ID NO:31] GB100 (VL-VH): DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDVATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLE	

Clon	VH	VL
	WMGFNYPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSED AVYHRCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTV [SEQ ID NO:32]	
Humanizado 12H10. G7 GB93/GB10 1 (mutaciones posteriores en VH y VL subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQ APGQRLEWMGFNYPYNDDTK YNEKFKGRVTITSDTSASTAY MELSSLRSED ~~T~~ AVYHRCARWR QLGSLDSWGQGTTTVTVSS [SEQ ID NO:9] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPASLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSG SGSRTDFTLTISLQAEDA ~~A~~ AVYY CQQNNEEPWTFGGGKVEIK [SEQ ID NO:34] CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
scFv de 12H10 humanizado. G7 GB93/GB10 1	GB93 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQAPG QCLEWMGFNYPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSL RSED ~~T~~ AVYHRCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSG GGGGSGGGSDIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDYTGSSF VHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISL QAEDA ~~A~~ AVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:35] GB101 (VL-VH): DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDYTGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDA ~~A~~ AVYY CQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQV LVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQC LEWMGFNYPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSED TAVYHRCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSS [SEQ ID NO:36]	
Humanizado 12H10. G7 GB94/GB10 2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQ APGQRLEWMGFNYPYNDDTK YNEKFKGRVTITRDTASTAY MELSSLRSED ~~T~~ AVYYCARWR QLGSLDSWGQGTTTVTVSS [SEQ ID NO:37]	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSG SGSGTDFTLTISLQAED ~~V~~ AVYY CQQNNEEPWTFGGGKVEIK [SEQ ID NO:38] CDR1: RASESVDTYGSSFVH

Clon	VH	VL
	CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	[SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
scFv de 12H10 humanizado. G7 GB94/GB102	GB94 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSED TAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:39] GB102 (VL-VH): DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSED TAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSS [SEQ ID NO:40]	
Humanizado 12H10. G7 GB102 D101E	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSED TAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSS [SEQ ID NO:41] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:42] CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
scFv de 12H10 humanizado.	VH-VL: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSL	

Clon	VH	VL
G7 GB102 D101E	RSEDTAVYYCARWRQLGSLESWGQTTVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSF VHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGGTDFLTISL QAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:43] VL-VH: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGGTDFLTISLQAEDVAVYY CQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQ LVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLE WMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSED TAVYYCARWRQLGSLESWGQTTVTVSS [SEQ ID NO:44]	
Humanizado 12H10. G7 GB102 M34I	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVIHWVRQA PGQRLEWMGFINPYNDDTKY NEKFKGRVTITRDTASTAY MELSSLRSEDTAVYYCARWR QLGSLDSWGQTTVTVSS [SEQ ID NO:45] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPDSLAVSLGERATIN RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSG SGGTDFLTISLQAEDVAVYY CQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:42] CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
scFv de 12H10 humanizado. G7 GB102 M34I	VH-VL: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQ CLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRS EDTAVYYCARWRQLGSLDSWGQTTVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFV HWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGGTDFLTISLQ AEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:47] VL-VH: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGGTDFLTISLQAEDVAVYY	

Clon	VH	VL
	CQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQ LVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLE WMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSED TAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS [SEQ ID NO:48]	
Humanizado 12H10. G7 GB102 M34I/D101E	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVIHWVRQA PGQRLEWMGFINPYNDDTKY NEKFKGRVTITRDTASTAY MELSSLRSED TAVYYCARWR QLGSLESWGQGTTVTVSS [SEQ ID NO:49] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLES [SEQ ID NO:50]	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSG SGSGTDFTLTISLQAEDVAVYY CQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:42] CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
scFv de 12H10 humanizado. G7 GB102 M34I/D101E	VH-VL: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVIHWVRQAPGQ CLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRS EDTAVYYCARWRQLGSLESWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVH WYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQA EDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:51] VL-VH: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYY CQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQ LVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLE WMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSED TAVYYCARWRQLGSLESWGQGTTVTVSS [SEQ ID NO:52]	
Humanizado 12H10. Consenso del	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVX ₁ HWVRQ APGQRLEWMGFINPYNDDTK YNEKFKGRVTITRDTASTAY	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSG SGSGTDFTLTISLQAEDVAVYY

Clon	VH	VL
G7 1	MELSSLRSEDТАVYYCARWR QLGSLX₂SWGQGTТVTVSS where X₁ is M or I, and X₂ is E or D [SEQ ID NO:53] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLXS, where X is E or D [SEQ ID NO:55]	CQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:42] CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
Humanizado 12H10. Consenso del G7 2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQ APGQRLEWMGFINPYNDDTK YNEKFKGRVTITX₁DTSASTA YMELSSLRSEDТАVYX₂CAR WRQLGSLDSWGQGTТVTVSS where X₁ is S or R, and X₂ is Y or H [SEQ ID NO:56] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPX₁SLAVSLGERATIN CRASESVDTYGSSFVHWYQQKP GQPPKLLIYLASNLESGVPDRFS GSGSX₂TDFTLTISLQAEDX₃AX ₄YYCQQNNEEPWTFGGGTKVEI K where X₁ is A or D, X₂ is R or G, and X₃ is A or V, and X₄ is T or V [SEQ ID NO:57] CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
Humanizado 12H10. Consenso del G7 3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVX₁HWVRQ APGQCLEWMGFINPYNDDTK YNEKFKGRVTITRDTASTAY MELSSLRSEDТАVYYCARWR QLGSLX₂SWGQGTТVTVSS where X₁ is M or I, and X₂ is E or D [SEQ ID NO:58] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSG SGSGTDFTLTISLQAEDVAVYY CQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:42] CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7]

Clon	VH	VL
	NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLXS, where X is E or D [SEQ ID NO:55]	CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
14A5.E8	EVQLQESGAELVQPGASVRL SCKASGYTFTSYWINWVKQR PGQGLEWIGNIYPGSSIINYNE NFKNRATLTVDTSSSTAYMQ LSSLTSDDSAVYYCARRVY LYFDYWGGQGTTLTVSS [SEQ ID NO:60] CDR1: GYTFTSY [SEQ ID NO:62] CDR2: YPGSSI [SEQ ID NO:63] CDR3: RVVYLYFDY [SEQ ID NO:64]	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTC SASSSVSYMHWYQQKSGTSPKR WIYDTSKLASGVPARFSGSGSGT SYSLTISSMEAEDAATYYCQW TSKSPTEFGGGTKLEIK [SEQ ID NO:61] CDR1: SASSSVSYMH [SEQ ID NO:65] CDR2: DTSKLAS [SEQ ID NO:66] CDR3: QQWTSKSPT [SEQ ID NO:67]
Humanizado 14A5. E8 1551/1552 (mutaciones posteriores en VH y VL subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGYTFTSYWINWVRQR PGKGLEWMGNIYPGSSIINYN ENFKNRVTMTVDTSSTAYM ELSSLRSED ~~T~~ AVYYCARRV YLYFDYWGGQGT ~~L~~ TVSS [SEQ ID NO:68] CDR1: GYTFTSY [SEQ ID NO:62] CDR2: YPGSSI [SEQ ID NO:63] CDR3: RVVYLYFDY [SEQ ID NO:64]	EIVLTQSPATLSLSPGEKATLSCS ASSSVSYMHWYQQKPGQAPRL LIYDTSKLASGIPARFSGSGSGTS FTLTISSLEPEDAAVYYCQWTS KSPTFGGGGTKVEIK [SEQ ID NO:69] CDR1: SASSSVSYMH [SEQ ID NO:65] CDR2: DTSKLAS [SEQ ID NO:66] CDR3: QQWTSKSPT [SEQ ID NO:67]
scFv de 14A5 humanizado. E8 1551/1552	1551 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGYTFTSYWINWVRQR PGKCLEWMGNIYPGSSIINYN ENFKNRVTMTVDTSSTAYM ELSSLRSED ~~T~~ AVYYCARRV YLYFDYWGGQGT ~~L~~ TVSS GGGGGSGGGGGSGG GGGGGGSEIVLTQSPATLSL SPGEKATLSCSASSSVSYMHWY QQKPGQAPRLLIYDTSKLAS GIPARFSGSGSGTSFTLTIS SLEPEDAAVYYCQWTSKSPT FGC ~~G~~ TKVEIK [SEQ ID NO:70]	

Clon	VH	VL
	1552 (VL-VH): EIVLTQSPATLSLSPGEKATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRL LIYDTSKSLASGIPARFSGSGSGTSFTLTISSELPEDAAYVYQCQQWTS KSPTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAE VKKPGASVKVSKVSGYTFTSYWINWVRQRPKCLEWMGNIYP GSSIINYNENFKNRVTMTVDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR RVVYLYFDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:71]	
	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGYTFTSYWINWVRQA PGKGLEWMGNIYPGSSIINYN ENFKNRVTMTEDTSTDAYM ELSSLRSEDTAVYYCARRVV YLYFDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:72] CDR1: GYTFTSY [SEQ ID NO:62] CDR2: YPGSSI [SEQ ID NO:63] CDR3: RVVYLYFDY [SEQ ID NO:64]	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCS ASSSVSYMHWYQQKPGQAPRL LIYDTSKSLASGIPARFSGSGSGTD FTLTISSELPEDFAVYQCQQWTS KSPTFGGGTKVEIK [SEQ ID NO:73] CDR1: SASSSVSYMH [SEQ ID NO:65] CDR2: DTSKSLAS [SEQ ID NO:66] CDR3: QQWTSKSPT [SEQ ID NO:67]
scFv de 14A5 humanizado. E8 1553/1554	1553 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKVSGYTFTSYWINWVRQAPGK CLEWMGNIYPGSSIINYNENFKNRVTMTEDTSTDAYMELSSLRS EDTAVYYCARRVVYLYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQ KPGQAPRLLIYDTSKSLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAV YYCQQWTSKSPTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:74] 1554 (VL-VH): EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRL LIYDTSKSLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYQCQQWTS KSPTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAE VKKPGASVKVSKVSGYTFTSYWINWVRQAPGKCLEWMGNIYP GSSIINYNENFKNRVTMTEDTSTDAYMELSSLRSEDTAVYYCAR RVVYLYFDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:75]	
Humanizado 14A5. E8 1689 (afinidad madurada a	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGYTFTSYWINWVRQA PGKGLEWMGNIYPGSSIINYN ENFKNRVTMTEDTSTDAYM ELSSLRSEDTAVYYCARRNV	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCS ASSSVSYIHWYQQKPGQAPRLLI YDTSKSLASGIPARFSGSGSGTDF TLTISSELPEDFAVYQCQQWTSK

Clon	VH	VL
partir de 1553)	YLTFDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:76] CDR1: GYTFPYY [SEQ ID NO:78] CDR2: YPGSSI [SEQ ID NO:63] CDR3: RNVYLTFDY [SEQ ID NO:79]	SPTFGGGTKVEIK [SEQ ID NO:77] CDR1: SASSSVSYIH [SEQ ID NO:80] CDR2: DTSKLAS [SEQ ID NO:66] CDR3: QQWTSKSPT [SEQ ID NO:67]
scFv de 14A5 humanizado. E8 1689 (afinidad madurada a partir de 1553)	VH-VL: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTFPYYWINWVRQAPGK CLEWMGNIYPGSSIIYNENFKNRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRS EDTAVYYCARRNVYLTFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGS EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYIHWYQQKPGQAPRLLI YDTSKLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQWTSK SPTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:81] VL-VH: EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYIHWYQQKPGQAPRLLI YDTSKLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQWTSK SPTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEV KKPGASVKVSCKVSGYTFPYYWINWVRQAPGKCLEWMGNIYPG SSIINYNENFKNRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDFAVYYCARR NVYLTFDYWGQGTLVTVSS [SEQ ID NO:82]	
Humanizado 14A5. Consenso E8	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGYTFX ₁ X ₂ YWINWVRQ X ₃ PGKX ₄ LEWMGNIYPGSSII YNENFKNRVTMTX ₅ DTSX ₆ DT AYMESSLRSEDFAVYYCAR RX ₇ VYLYX ₈ FDYWGQGTLVTV SS where X ₁ is P or T, X ₂ is S or Y, X ₃ is A or R, X ₄ is C or G, X ₅ is V or E, X ₆ is S or T, X ₇ is N or V, and X ₈ is T or Y [SEQ ID NO:29]	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCS ASSSVSYXHWYQQKPGQAPRLI YDTSKLASGIPARFSGSGSGTDF TLTISSELPEDFAVYYCQQWTSK SPTFGGGTKVEIK where X is M or I [SEQ ID NO:84] CDR1: SASSSVSYXH, wherein X is M or I [SEQ ID NO:86] CDR2: DTSKLAS [SEQ ID NO:66]

Clon	VH	VL
	CDR1: GYTFX₁X₂Y, where X₁ is P or T, and X₂ is S or Y [SEQ ID NO:59] CDR2: YPGSSI [SEQ ID NO:63] CDR3: RX₁VYLY₂FDY, where X₁ is N or V, and X₂ is T or Y [SEQ ID NO:54]	CDR3: QQWTSKSPT [SEQ ID NO:67]
11F4.B9	EVQLQESGP~~EL~~VKPGASVKISCKASGYSFTGYYIH~~W~~VKQGP EKSLEWIG~~EI~~PSTGSTIYNQKFKAKATLTVDKSSSTAYLQL KSLTSEDSAVYYCERWGDYYGRDYWGQGTSTVTVSS [SEQ ID NO:85] CDR1: GYSFTGY [SEQ ID NO:87] CDR2: IPSTGS [SEQ ID NO:88] CDR3: WGDYYGRDY [SEQ ID NO:89]	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDIYGNSFMHWYQQKPG QPPKLLIYRASNL~~ES~~GIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYY CQQSNEDPRTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO:90] CDR1: RASESVDIYGNSFMH [SEQ ID NO:91] CDR2: RASNLES [SEQ ID NO:92] CDR3: QQS~~NED~~PRT [SEQ ID NO:93]
Humanizado 11F4. B9 (mutaciones posteriores subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYYIH~~W~~VRQGP PGQGLEWMGEIIPSTGSTIYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYM ELSSLRSEDTAVYYCERWGDYYGRDYWGQGT~~L~~TVTVSS [SEQ ID NO:14] CDR1: GYSFTGY [SEQ ID NO:87] CDR2: IPSTGS [SEQ ID NO:88] CDR3: WGDYYGRDY [SEQ ID NO:89]	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDIYGNSFMHWYQQKPG QPPKLLIYRASNL~~ES~~GVPDRFSGSGSRTDFTLTINSLQAEDVATYY CQQSNEDPRTFGGGTKVEIK [SEQ ID NO:94] CDR1: RASESVDIYGNSFMH [SEQ ID NO:91] CDR2: RASNLES [SEQ ID NO:92] CDR3: QQS~~NED~~PRT [SEQ ID NO:93]
4A4.A3	QVTLKESGPGILQPSQTL~~SL~~TC SFSGFSLTTYGMGVGWIRQPSGKGLEWLANIWFNDNKYYN STLKSRLTISKDTSN~~NQ~~VFLKISSVDTTDTATYYCAQITTVVG TFDYWGQGSPLTVSP [SEQ ID NO:95]	RIVMTQSPTTMAASPG~~E~~KITITCS ASSISSIYLHWYQQKPGFSPKLLIFRTSDLASGVPPRFGGSGSGTS YSLTIGTMEAEADVATYYCQQGS SFPRTFGGG~~T~~KLEIK [SEQ ID NO:96]

Clon	VH	VL
	NO:95] CDR1: GFSLTTYGM [SEQ ID NO:97] CDR2: WFNDN [SEQ ID NO:99] CDR3: ITTVVGTFDY [SEQ ID NO:100]	CDR1: SASSSISSIYLH [SEQ ID NO:101] CDR2: RTSDLAS [SEQ ID NO:102] CDR3: QQGSSFPRT [SEQ ID NO:103]
4A4.H7	EVQLQESGPELVKPGASVKIS CKASGYSFTGYYIHVVKQSP EESLEWIGEIYPNTGITTYNQK FTAKATLTVDKSSNTAYMQL KSLTSEDSAVYYCTRWGDYY GRDYWGQGTSTVTVSS [SEQ ID NO:104] CDR1: GYSFTGY [SEQ ID NO:87] CDR2: YPNTGI [SEQ ID NO:98] CDR3: WGDYYGRDY [SEQ ID NO:89]	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC RASETVDTHGNSFMHWYQQKP GQPPKLLIYRASNLSEGI PARFSG SGSRTDFTLTINPVEADDVATYY CQSNEDPRTFGGGGTKLEIK [SEQ ID NO:105] CDR1: RASETVDTHGNSFMH [SEQ ID NO:106] CDR2: RASNLES [SEQ ID NO:92] CDR3: QQSNEDPRT [SEQ ID NO:93]
15A11.C8	EVQLQESGGGLVKTGGSRLK SCAASGFTFSDYGMHWVRHT PEKGLEWVVYISSGGNTIFYT DTVKGRFTISRDNKNTLFLQ MTSLRSEDTAVYFCVRQGY YAMDYWGQGASVTVSS [SEQ ID NO:107] CDR1: GFTFSDY [SEQ ID NO:109] CDR2: SSGGNT [SEQ ID NO:110] CDR3: QGYYYAMDY [SEQ ID NO:111]	DIQMTQTSSLSASLGDRVTIRC RASQDITNYLNWYQQKPDGAV KLLISYTSILQSGVPSRFSGSGSG TDYSLTISNLEQGDVATYFCQQ GSSLPWTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO:108] CDR1: RASQDITNYLN [SEQ ID NO:112] CDR2: YTSILQS [SEQ ID NO:113] CDR3: QQGSSLPWT [SEQ ID NO:114]
12C9.E5	EVQLQESGAELVRPGASVKL SCKASGYIFTDYEIHVVKQTP VHGLEWIGAIDPETGITAYSQ KFKGKATLTDTSSSTAYMEF RSLTSEDSAVYYCTRGGLLY	DVVMTQTPLSLSVTIGQPASISC KSSQSLLYSDGETYLNWLQQR GQSPKRLMYQVSKLDPGIPDRFS GSGSETDFTLKISRVEAEDLGIY YCLQGTFYPHTFGGGGTKLEIK

Clon	VH	VL
	WGQGTSVTVSS [SEQ ID NO:115] CDR1: GYIFTDY [SEQ ID NO:117] CDR2: DPETGI [SEQ ID NO:118] CDR3: GGLLY [SEQ ID NO:119]	[SEQ ID NO:116] CDR1: KSSQSLLYSDGETYLN [SEQ ID NO:120] CDR2: QVSKLDP [SEQ ID NO:121] CDR3: LQGTFFYPHT [SEQ ID NO:122]
1A2.A3	EVQLQESGPPELVKPGASVKIS CKASGYSTGYIHWVKQSP EESLEWIGEIPNTGITTYNQK FTAKATLTVDKSSNTAYMQL KSLTSEDSAVYYCTRWGDYY GRDYWGQGTSVTVSS [SEQ ID NO:123] CDR1: GYSFTGY [SEQ ID NO:87] CDR2: YPNTGI [SEQ ID NO:98] CDR3: WGDYYGRDY [SEQ ID NO:89]	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISC RASETVDTHGNSFMHWYQQKP GQPPKLLIYRASNLGIPARFSG SGSRTDFTLTINPVEADDVATYY CQSNEDPRTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO:124] CDR1: RASETVDTHGNSFMH [SEQ ID NO:106] CDR2: RASNLES [SEQ ID NO:92] CDR3: QQSNEDPRT [SEQ ID NO:93]
4H2.E3	EVQLQESGPPELVKPGASVKM SCKASGYTFTSYLMHWMKQ KPGQGLEWIGYINPYSDGIKY NEKFRDKATLTSDKSSNTAY MELSSLTSEDSAVYYCAHSSG YVGYAMDYWGQGTSVTVSS [SEQ ID NO:125] CDR1: GYTFTSY [SEQ ID NO:62] CDR2: NPYSDG [SEQ ID NO:33] CDR3: SSGYVGYAMDY [SEQ ID NO:127]	GIVMTQTTPSPVPTPGESVSISCR SSKSLLHSNGNTYLYWFLQRP QSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSG SSGTTFTLRISRVEAEDVGVYY CMQHLEYPFTFGSGTKLEIK [SEQ ID NO:126] CDR1: RSSKSLLHSNGNTYLY [SEQ ID NO:128] CDR2: RMSNLAS [SEQ ID NO:129] CDR3: MQHLEYPFT [SEQ ID NO:130]
14H8.E7	EVQLQESGAELVKPGASVKL SCKASGYTFTNYWINWLKQR PGQGLEWIGNIYPGSTIINYNE KFKNKATLTVDTSSTAYMQ	QIVLTQSPAISASPGEKVTMTC SASSSVSYMHWYQQKSGTSPKR WIFDTSKLASGVPVRFSGSGSGT SYSLTITNMETEDAATYYCQQW

Clon	VH	VL
	LSSLTSDDSAVYYCARRVY LYFDSWGQGTTLTVSS [SEQ ID NO:131] CDR1: GYTFTNY [SEQ ID NO:132] CDR2: YPGSTI [SEQ ID NO:133] CDR3: RVVYLYFDS [SEQ ID NO:134]	SSKSPTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO:83] CDR1: SASSSVSYM [SEQ ID NO:65] CDR2: DTSKLAS [SEQ ID NO:66] CDR3: QQWSSKSPT [SEQ ID NO:46]

[0066] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un dominio variable de la cadena pesada del anticuerpo (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntico al VH de un anticuerpo descrito en la Tabla 1, y un dominio variable de cadena ligera (VL) del anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntico al VH del mismo anticuerpo descrito en la Tabla 1. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende las cadenas pesadas CDR1, CDR2 y CDR3 y las cadenas ligeras CDR1, CDR2 y CDR3, determinadas bajo Kabat (ver Kabat *et al.*, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Publicación del NIH No. 91-3242, Bethesda), Chothia (ver, por ejemplo, Chothia C & Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196: 901-917), MacCallum (ver MacCallum RM *et al.*, (1996) J Mol Biol 262: 732-745), o cualquier otro método de determinación de CDR conocido en la técnica, de las secuencias VH y VL de un anticuerpo se describe en la Tabla 1. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende las CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada y las CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena ligera de un anticuerpo descrito en la Tabla 1.

[0067] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con 12H10.G7. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1,

y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 2. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente.

[0068] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con GB87 o GB95. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 10. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 3 o 12.

[0069] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con GB88 o GB96. Por ejemplo, en determinadas modalidades,

el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 10. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 15 o 16.

[0070] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con GB89 o GB97. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 10. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente; y (b) una VL

que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a SEQ ID NO: 19 o 20.

[0071] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con GB90 y GB98. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 22. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a SEQ ID NO: 23 o 24.

[0072] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con GB91 y GB99. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el

94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 26. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntico a SEQ ID NO: 27 o 28.

[0073] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con GB92 o GB100. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 30. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %)

idéntica a la SEQ ID NO: 31 o 32.

[0074] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con GB93 o GB101. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 34. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a SEQ ID NO: 35 o 36.

[0075] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con GB94 o GB102. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 38. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente. En determinadas

modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 39 o 40.

[0076] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con GB102 D101E. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 42. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a SEQ ID NO: 43 o 44.

[0077] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con GB102 M34I. Por ejemplo, en determinadas modalidades,

el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 42. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a SEQ ID NO: 47 o 48.

[0078] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con GB102 M34I / D101E. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 42. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 50, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 50,

respectivamente;y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 51 o 52.

[0079] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con 12H10.G7 humanizado. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 42. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 55, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 55, respectivamente;y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente.

[0080] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con 12H10.G7 humanizado. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 57. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de

aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente.

[0081] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con 12H10.G7 humanizado. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 58, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 42. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 55, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 55, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente.

[0082] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con 14A5.E8. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 61. En ciertas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las

SEQ ID NO: 62, 63 y 64, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 65, 66 y 67, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 62, 63 y 64, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 65, 66 y 67, respectivamente.

[0083] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con mAb 1551 o 1552. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 69. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 62, 63 y 64, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 65, 66 y 67, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 62, 63 y 64, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 65, 66 y 67, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 70 o 71.

[0084] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con mAb 1553 o 1554. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 73. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 62, 63 y 64, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 65, 66 y 67, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 62, 63 y 64, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 65, 66 y 67, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 74 o 75.

[0085] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con mAb 1689. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 77. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 78, 63 y 79, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 80, 66 y 67, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 78, 63 y 79, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 80, 66 y 67, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una

secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 81 u 82.

[0086] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con 14A5.E8 humanizado. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 84. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 59, 63 y 54, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 86, 66 y 67, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 59, 63 y 54, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 86, 66 y 67, respectivamente.

[0087] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con 11F4.B9. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 90. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 87, 88 y 89, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 91, 92 y 93, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión

al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 87, 88 y 89, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 91, 92 y 93, respectivamente.

[0088] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con el 11F4.B9 humanizado. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 94. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 87, 88 y 89, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 91, 92 y 93, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 87, 88 y 89, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 91, 92 y 93, respectivamente.

[0089] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con 4A4.A3. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 96. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 97, 99 y 100, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 101, 102 y 103, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de

unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 97, 99 y 100, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 101, 102 y 103, respectivamente.

[0090] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con 4A4.H7. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 105. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 87, 98 y 89, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 106, 92 y 93, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEC ID N°: 87, 98 y 89, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 106, 92 y 93, respectivamente.

[0091] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con 15A11.C8. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 107, y un VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntico a SEQ ID NO: 108. En determinadas realizaciones, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 109, 110 y 111, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 112, 113 y 114, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de

unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 109, 110 y 111, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 112, 113 y 114, respectivamente.

[0092] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con 12C9.E5. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115, y un VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 116. En determinadas realizaciones, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 117, 118 y 119, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 120, 121 y 122, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 117, 118 y 119, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 120, 121 y 122, respectivamente.

[0093] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con 1A2.A3. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123, y un VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a SEQ ID NO: 124. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 87, 98, 89, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 106, 92, 93, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión

al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 87, 98, 89, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 106, 92, 93, respectivamente.

[0094] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con 4H2.E3. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125, y un VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 126. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 62, 33 y 127, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 128, 129 y 130, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 62, 33 y 127, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 128, 129 y 130, respectivamente.

[0095] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención está relacionado con 14H8.E7. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la SEQ ID NO: 83. En determinadas modalidades, el VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 132, 133 y 134, respectivamente. En determinadas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 65, 66 y 46, respectivamente. En determinadas

modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende (a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 132, 133 y 134, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 65, 66 y 46, respectivamente.

[0096] En cada una de las modalidades anteriores, se contempla en el presente documento que las secuencias VH y / o VL que se unen juntas FLT3 puede contener alteraciones de aminoácidos (p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 10 sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácidos) en las regiones marco de VH y / o VL sin afectar su capacidad para unirse a FLT3 de manera significativa.

[0097] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la invención anterior se une a FLT3 (p. ej., FLT3 humano) con una K_d (es decir, constante de disociación) de 1 nM o menos, 5 nM o menos, o 10 nM o menos, 15 nM o menos, o 20 nM o menos, medido por resonancia de plasmón superficial (SPR) (p. ej., usando el método descrito en el Ejemplo 1 *infra*) o por interferometría de biocapa (BLI) y / o se une a FLT3 de un fluido corporal, tejido y / o célula de un sujeto. En determinadas modalidades, cualquiera de los anticuerpos aislados anteriores tiene una K_d (es decir, fuera de tarifa, también llamado K_{off}) igual o inferior a 1×10^{-5} , 1×10^{-4} , 1×10^{-3} , 5×10^{-3} , 0,01, 0,02 o 0,05 1 / s, medido por SPR (p. ej., usando el método descrito en el Ejemplo 1 *infra*) o por BLI.

[0098] En determinadas modalidades, un sitio de unión a antígeno de la presente invención, p. ej., un sitio de unión a antígeno relacionado con 12H10.G7, GB87, GB88, GB89, GB90, GB91, GB92, GB93, GB94, GB95, GB96, GB97, GB98, GB99, GB100, GB101, GB102, GB102 M34I, GB102 D101E, GB102 M34I / D101E, o un 12H10.G7 humanizado descrito anteriormente, se une a una variante de FLT3 humana que tiene una mutación T227M o la región extracelular de la misma. La secuencia de aminoácidos de la región extracelular de hFLT3-T227M es NQDLPIVKCVLINHKNDSSVGKSSSYPMVSESPEDLGALRPQSSGTVYEA AAVEVDVS ASITLQVLVDAPGNISCLWVFKHSSLNCQPHFDLQNRGVVSMVILKMTETQAGEYLLFIQS EATNYTILFTVSIRNTLLYTLRRPYFRKMENQDALVCISESVPEPIVEWVLCDSQGESCKEE SPAVVKKEEKVLHELFGMDIRCCARNELGRECTRLFTIDLNQTPQTTL PQLFLKVGEPLWI RCKAVHVNHGFGLTWELENKALEEGNYFEMSTYSTNRTMIRILFAFVSSVARNDTGYYTC SSSKHPSQSALVTIVEKGFINATNSSDYEDQYEEFCFSVRFKAYPQIRCTWTF SRKSFP CEQKGLDNGYSISKFCNHHKHQPGEYIFHAENDDAQFTKMFTLNIRRK PQVLAEASASQAS CFSDGYPLPSWTWKKCSDKSPNCTEEITEGVWNRKANRKFVFGQWVSSSTLNMSEAIKG FLVKCCAYNSLGTSCETILLNSPGPFPIQDNIS (SEQ ID NO: 25).

[0099] En determinadas modalidades, un sitio de unión a antígeno de la presente

invención, p. ej., un sitio de unión a antígeno relacionado con 12H10.G7, GB87, GB88, GB89, GB90, GB91, GB92, GB93, GB94, GB95, GB96, GB97, GB98, GB99, GB100, GB101, GB102, GB102 M34I, GB102 D101E, GB102 M34I/D101E, o un 12H10.G7 humanizado descrito anteriormente, se une a una variante de FLT3 humana que tiene una mutación ITD o la región extracelular de la misma. La secuencia de aminoácidos de la región extracelular de hFLT3-ITD es

NQDLPVIKCVLINHKNNNDSSVGKSSSYPMVSESPEDLGALRPQSSGTVYEEAAVEVDVS
ASITLQVLVDAPGNISCLWVFKHSSLNCQPHFDLQNRGVVSMVILKMTETQAGEYLLFIQS
EATNYTILFTVSIRNTLLYTLRRPYFRKMENQDALVCISESVPEPIVEWVLCDSQGESCREE
SPAVVKKEEKVLHELFGTDIRCCARNELGRECTRLFTIDLNQTPQTTLPLQLKVGEPWIR
CKAVHVNHGFGTLWELENKALEEGNYFEMSTYSTNRTMIRILFAFVSSVARNDTGYTCS
SSKHPSQSALVTIVEKGFINATNSEDYEIDQYEEFCFSVRFKAYPQIRCTWTFSRKSFPC
EQKGLDNGYSISKFCNHKHQPGYIFHAENDDAQFTKMFTLNIRRKPVLAEEASASQASC
FSDGYPLPSWTWKKCSDKSPNCTEEITEGVWNRKANRKVFGQWVSSSTLNMSEAIGFL
VKCCAYNSLGTSCETILLNSPGPFPIQDNIS (SEQ ID NO: 18).

[0100] En determinadas modalidades, un sitio de unión a antígeno de la presente invención, p. ej., un sitio de unión a antígeno relacionado con 12H10.G7, GB87, GB88, GB89, GB90, GB91, GB92, GB93, GB94, GB95, GB96, GB97, GB98, GB99, GB100, GB101, GB102, GB102 M34I, GB102 D101E, GB102 M34I/D101E, un 12H10.G7 humanizado, 14A5.E8, 1551, 1552, 1553, 1554, 1689, un 14A5.E8 humanizado, 11F4.B9, 4A4.A3, 4A4.H7, 15A11.C8, 1A2.A3, 4H2.E3 o 14H8.E7 divulgado anteriormente, se une a cynomolgus FLT3.

[0101] En determinadas modalidades, un sitio de unión a antígeno de la presente invención, p. ej., un sitio de unión a antígeno relacionado con 12H10.G7, GB87, GB88, GB89, GB90, GB91, GB92, GB93, GB94, GB95, GB96, GB97, GB98, GB99, GB100, GB101, GB102, GB102 M34I, GB102 D101E, GB102 M34I/D101E, un 12H10.G7 humanizado, 14A5.E8, 1551, 1552, 1553, 1554, 1689, un 14A5.E8 humanizado, 11F4.B9, 4A4.A3, 4A4.H7, 12C9.E5, 1A2.A3, 4H2.E3 o 14H8.E7 divulgado anteriormente, no compite con FLT3L por la unión de FLT3.

[0102] En otro aspecto, la presente invención proporciona un sitio de unión a antígeno que compite por unirse a FLT3 (p. ej., FLT3 humano, FLT3 de cynomolgus) con un sitio de unión a antígeno descrito anteriormente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención compite con un sitio de unión al antígeno relacionado con 1A2.A3 divulgado anteriormente para unirse a FLT3. En una modalidad, el sitio de unión al antígeno compite con 1A2.A3 para vincular a FLT3. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención compite con un sitio de

unión al antígeno relacionado con 4A4.A3 divulgado anteriormente para unirse a FLT3. En una modalidad, el sitio de unión al antígeno compite con 4A4.A3 para vincular a FLT3. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención compite con un sitio de unión al antígeno relacionado con 4H2.E3 descrito anteriormente para unirse a FLT3. En una modalidad, el sitio de unión al antígeno compite con 4H2.E3 para unirse a FLT3. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno de la presente invención compite con un sitio de unión al antígeno relacionado con 11F4.B9 descrito anteriormente para unirse a FLT3. En una modalidad, el sitio de unión al antígeno compite con el 11F4.B9 para unirse a FLT3.

Proteínas con sitios de unión a antígenos

[0103] Un sitio de unión a antígeno descrito en el presente documento puede estar presente en un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo. El anticuerpo puede ser un anticuerpo monoclonal, un anticuerpo quimérico, un diacuerpo, un fragmento Fab, un fragmento Fab' o un fragmento F(ab')₂, un Fv, un anticuerpo biespecífico, un Fab2 biespecífico, un biespecífico (mab) 2, un anticuerpo humanizado, un anticuerpo humano generado artificialmente, un activador de células T biespecífico, un activador de células NK biespecífico, un anticuerpo de cadena sencilla (p. ej. fragmento Fv de cadena simple o scFv), triomab, protuberancias en agujeros (kih) IgG con cadena ligera común, crossmab, orto-Fab IgG, DVD-Ig, 2 en 1-IgG, IgG-scFv, sdFv2-Fc, bi-nanocuerpo, tandAb, anticuerpo de reorientación de doble afinidad (DART), DART-Fc, scFv-HSA-scFv (donde HSA = albúmina de suero humano) o dock-and-lock (DNL) -Fab3.

[0104] En ciertas modalidades, un sitio de unión a antígeno descrito en este documento está vinculado a una secuencia de aminoácidos al menos en un 90 % (p. ej., 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a una región constante de anticuerpo, p. ej., las regiones constantes de cadena pesada de IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD e IgE; particularmente, elegido de, p. ej., el (p. ej., humano) regiones constantes de cadena pesada de IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. En otra realización, un sitio de unión a antígeno descrito en este documento se puede vincular a una región constante de cadena ligera elegida entre, p. ej., el (p. ej., humano) regiones constantes de cadena ligera de kappa o lambda. La región constante se puede alterar, p. ej., mutado, para modificar las propiedades del anticuerpo (p. ej., para aumentar o disminuir uno o más de: unión al receptor Fc, glicosilación del anticuerpo, número de residuos de cisteína, función de la célula efectora y / o función del complemento). En una modalidad, el anticuerpo tiene función efectora y puede fijar el complemento. En otras realizaciones, el anticuerpo no recluta células efectoras ni fija complemento. En otra realización, el anticuerpo tiene capacidad reducida o nula para unirse a un receptor Fc.

Por ejemplo, es un isotipo o subtipo, fragmento u otro mutante, que no admite la unión a un receptor Fc, p. ej., tiene una región de unión al receptor Fc mutagenizado o eliminado.

[0105] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno está unido a una región constante de IgG que incluye los dominios bisagra, CH2 y CH3 con o sin un dominio CH1. En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de la región constante es al menos del 90 % (p. ej., 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a una región constante de anticuerpo humano, tal como una región constante de IgG1 humana, una región constante de IgG2 humana, una región constante de IgG3 humana o una región constante de IgG4 humana. En una modalidad, el dominio Fc del anticuerpo o una porción del mismo suficiente para unirse a CD16 comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia Fc de IgG1 humana de tipo salvaje DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO: 21). En algunas otras realizaciones, la secuencia de aminoácidos de la región constante es al menos del 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a una región constante de anticuerpo de otro mamífero, como conejo, perro, gato, ratón o caballo. Se pueden incorporar una o más mutaciones en la región constante en comparación con la región constante de IgG1 humana, por ejemplo en Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 y / o K439. Sustituciones ejemplares incluyen, por ejemplo, Q347E, Q347R, Y349S, Y349K, Y349T, Y349D, Y349E, Y349C, T350V, L351K, L351D, L351Y, S354C, E356K, E357Q, E357L, E357W, K360E, K360W, Q362E, S364K, S364E, S364H, S364D, T366V, T366I, T366L, T366M, T366K, T366W, T366S, L368E, L368A, L368D, K370S, N390D, N390E, K392L, K392M, K392V, K392F, K392D, K392E, T394F, T394W, D399R, D399K, D399V, S400K, S400R, D401K, F405A, F405T, Y407A, Y407I, Y407V, K409F, K409W, K409D, T411D, T411E, K439D y K439E.

[0106] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno está unido a una porción de un dominio Fc de anticuerpo suficiente para unirse a CD16. Dentro del dominio Fc, la unión de CD16 está mediada por la región bisagra y el dominio CH2. Por ejemplo,

dentro de la IgG1 humana, la interacción con CD16 se centra principalmente en los residuos de aminoácidos Asp 265 - Glu 269, Asn 297 - Thr 299, Ala 327 - Ile 332, Leu 234 - Ser 239 y el residuo de carbohidrato N-acetil-D -glucosamina en el dominio CH2 (ver Sonderrmann *et al.*, Nature, 406 (6793): 267-273). Sobre la base de los dominios conocidos, las mutaciones se pueden seleccionar para mejorar o reducir la afinidad de unión a CD16, tal como mediante el uso de bibliotecas mostradas en fagos o bibliotecas de ADNc de superficie de levadura, o se pueden diseñar basándose en la estructura tridimensional conocida de la Interacción.

[0107] En determinadas modalidades, las mutaciones que pueden incorporarse en el CH1 de una región constante de IgG1 humana pueden estar en el aminoácido V125, F126, P127, T135, T139, A140, F170, P171 y / o V173. En determinadas modalidades, las mutaciones que se pueden incorporar en la Ck de una región constante de IgG1 humana pueden estar en el aminoácido E123, F116, S176, V163, S174 y / o T164.

[0108] En algunas modalidades, el dominio constante del anticuerpo comprende un dominio CH2 y un dominio CH3 de un anticuerpo IgG, por ejemplo, un anticuerpo IgG1 humano. En algunas modalidades, se introducen mutaciones en el dominio constante del anticuerpo para permitir la heterodimerización con otro dominio constante del anticuerpo. Por ejemplo, si el dominio constante del anticuerpo se deriva del dominio constante de una IgG1 humana, el dominio constante del anticuerpo puede comprender una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntico a los aminoácidos 234-332 de un anticuerpo IgG1 humano, y difiere en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 y K439. Todas las posiciones de aminoácidos en un dominio Fc o región bisagra descritas en el presente documento están numeradas según la numeración de la UE.

[0109] Para facilitar la formación de una proteína asimétrica, se contempla la heterodimerización del dominio Fc. Mutaciones (p. ej., sustituciones de aminoácidos) en el dominio Fc que promueven la heterodimerización se describen, por ejemplo, en la Publicación de Solicitud Internacional No.WO2019157366, que no se incorpora aquí como referencia.

[0110] Las proteínas descritas anteriormente se pueden preparar usando tecnología de ADN recombinante bien conocida por un experto en la técnica. Por ejemplo, se puede clonar una primera secuencia de ácido nucleico que codifica la primera cadena pesada de inmunoglobulina en un primer vector de expresión; una segunda secuencia de ácido

nucleico que codifica la segunda cadena pesada de inmunoglobulina puede clonarse en un segundo vector de expresión; una tercera secuencia de ácido nucleico que codifica la primera cadena ligera de inmunoglobulina puede clonarse en un tercer vector de expresión; una cuarta secuencia de ácido nucleico que codifica la segunda cadena ligera de inmunoglobulina se puede clonar en un cuarto vector de expresión; los vectores de expresión primero, segundo, tercero y cuarto pueden transfectarse de manera estable juntos en células huésped para producir las proteínas multiméricas.

[0111] Para lograr el mayor rendimiento de las proteínas, se pueden explorar diferentes proporciones de los vectores de expresión primero, segundo, tercero y cuarto para determinar la proporción óptima para la transfección en las células huésped. Después de la transfección, se pueden aislar clones individuales para la generación de bancos de células usando métodos conocidos en la técnica, tales como dilución limitada, ELISA, FACS, microscopía o Clonepix.

[0112] Los clones se pueden cultivar en condiciones adecuadas para el aumento de escala del bio-reactor y la expresión mantenida de una proteína que comprende un sitio de unión a antígeno descrito en este documento. La proteína puede aislarse y purificarse usando métodos conocidos en la técnica que incluyen centrifugación, filtración profunda, lisis celular, homogeneización, congelación-descongelación, purificación por afinidad, filtración en gel, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de intercambio de interacción hidrófoba y cromatografía de modo mixto.

[0113] Por consiguiente, en otro aspecto, la presente invención proporciona uno o más ácidos nucleicos aislados que comprenden secuencias que codifican una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina y / o cadena ligera de inmunoglobulina de cualquiera de los anticuerpos anteriores. La invención proporciona uno o más vectores de expresión que expresan la región variable de cadena pesada de inmunoglobulina y / o cadena ligera de inmunoglobulina de cualquiera de los anticuerpos anteriores. De manera similar, la invención proporciona células huésped que comprenden uno o más de los vectores de expresión anteriores y / o ácidos nucleicos aislados.

[0114] En determinadas modalidades, el anticuerpo se une a FLT3 con una K_D de 20 nM, 15 nM, 10 nM, 9 nM, 8 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM, 1 nM o menor, medido usando ensayos de unión estándar, por ejemplo, resonancia de plasmón superficial o interferometría de biocapa. En determinadas modalidades, el anticuerpo se une a EBI3 de un fluido corporal, tejido y / o célula de un sujeto.

[0115] Se conocen en la técnica ensayos de competencia para determinar si un anticuerpo se une al mismo epítipo que, o compite por unirse con un anticuerpo descrito. Los ensayos de competición ejemplares incluyen inmunoensayos (p. ej., Ensayos ELISA,

ensayos RIA), resonancia de plasmón superficial (p. ej., Análisis BIAcore), interferometría de biocapa y citometría de flujo.

[0116] Normalmente, un ensayo de competición implica el uso de un antígeno (p. ej., una proteína humana FLT3 o fragmento de la misma) unida a una superficie sólida o expresada en una superficie celular, una prueba FLT3-anticuerpo de unión y un anticuerpo de referencia. El anticuerpo de referencia está marcado y el anticuerpo de prueba no está marcado. La inhibición competitiva se mide determinando la cantidad de anticuerpo de referencia marcado unido a la superficie sólida o células en presencia del anticuerpo de prueba. Por lo general, el anticuerpo de prueba está presente en exceso (p. ej., 1x, 5x, 10x, 20x o 100x). Anticuerpos identificados por ensayo de competición (p. ej., anticuerpos competidores) incluyen anticuerpos que se unen al mismo epítipo, o similares (p. ej., superpuestos) epítipos, como el anticuerpo de referencia, y anticuerpos que se unen a un epítipo adyacente suficientemente próximo al epítipo unido por el anticuerpo de referencia para que se produzca el impedimento estérico.

[0117] Se puede realizar un ensayo de competición en ambas direcciones para asegurar que la presencia del marcador no interfiera o inhiba de otro modo la unión. Por ejemplo, en la primera dirección, el anticuerpo de referencia está marcado y el anticuerpo de prueba no está marcado, y en la segunda dirección, el anticuerpo de prueba está marcado y el anticuerpo de referencia no está marcado.

[0118] Un anticuerpo de prueba compite con el anticuerpo de referencia por la unión específica al antígeno si un exceso de un anticuerpo (p. ej., 1x, 5x, 10x, 20x o 100x) inhibe la unión del otro anticuerpo, p. ej., en al menos 50 %, 75 %, 90 %, 95 % o 99 % medido en un ensayo de unión competitiva.

[0119] Se pueden determinar dos anticuerpos parase unen al mismo epítipo si esencialmente todas las mutaciones de aminoácidos en el antígeno que reducen o eliminan la unión de un anticuerpo reducen o eliminan la unión del otro. Se puede determinar que dos anticuerpos se unen a epítipos superpuestos si solo un subconjunto de las mutaciones de aminoácidos que reducen o eliminan la unión de un anticuerpo reducen o eliminan la unión del otro.

[0120] Los anticuerpos descritos en este documento se pueden optimizar aún más (p. ej., madurado por afinidad) para mejorar las características bioquímicas que incluyen afinidad y / o especificidad, mejorar las propiedades biofísicas que incluyen agregación, estabilidad, precipitación y / o interacciones no específicas y / o para reducir la inmunogenicidad. Los procedimientos de maduración por afinidad están dentro de los conocimientos habituales en la técnica. Por ejemplo, la diversidad se puede introducir en una cadena pesada de inmunoglobulina y / o una cadena ligera de inmunoglobulina

mediante reorganización de ADN, reorganización de cadenas, reorganización de CDR, mutagénesis aleatoria y / o mutagénesis específica de sitio.

[0121] En ciertas realizaciones, los anticuerpos humanos aislados contienen una o más mutaciones somáticas. En estos casos, los anticuerpos se pueden modificar a una secuencia de línea germinal humana para optimizar el anticuerpo (p. ej., mediante un proceso denominado germinización).

[0122] Generalmente, un anticuerpo optimizado tiene al menos la misma, o sustancialmente la misma, afinidad por el antígeno que el anticuerpo no optimizado (o parental) del que se deriva. Preferiblemente, un anticuerpo optimizado tiene una mayor afinidad por el antígeno en comparación con el anticuerpo original.

[0123] Si el anticuerpo es para uso terapéutico, puede conjugarse con un agente efector, como una toxina de molécula pequeña o un radionúclido, usando un *in vitro* químicas de conjugación. Si el agente efector es un polipéptido, el anticuerpo puede conjugarse químicamente con el efector o unirse al efector como una proteína de fusión. La construcción de proteínas de fusión se encuentra dentro de los conocimientos habituales en la técnica.

[0124] El anticuerpo se puede conjugar con un resto efector tal como una toxina de molécula pequeña o un radionúclido usando estándar *in vitro* químicas de conjugación. Si el resto efector es un polipéptido, el anticuerpo puede conjugarse químicamente con el efector o unirse al efector como una proteína de fusión. La construcción de proteínas de fusión se encuentra dentro de los conocimientos habituales en la técnica.

[0125] En determinadas modalidades, la proteína (p. ej., anticuerpo) de la presente divulgación no es internalizado sustancialmente por una célula que expresa FLT3. Un nivel bajo de internalización puede mejorar la farmacocinética de la proteína, reduciendo así la dosis requerida para involucrar a las células objetivo que expresan FLT3 con las células efectoras (p. ej., Células NK). La internalización se puede medir mediante cualquier método conocido en la técnica, p. ej., los métodos descritos en el Ejemplo 7 de la presente divulgación. Por ejemplo, en ciertas modalidades, la internalización de la proteína por células ROH o EOL-1 es menor que 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 % o 50 % después de una incubación de dos horas, según se evalúa mediante los métodos descritos en este documento.

Células T CAR, activadores de células T biespecíficos dirigidos por FLT3/CD3, inmunocitocinas, conjugados anticuerpo-fármaco e inmunotoxinas

[0126] Otro aspecto de la presente invención proporciona una molécula o complejo que comprende un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 como se describe en el presente documento. Los ejemplos de moléculas o complejos incluyen, pero no se limitan

a, receptores de antígenos quiméricos (CAR), acopladores de células T (p. ej., Acopladores de células T biespecíficos dirigidos por FLT3 / CD3), inmunocitocinas, conjugados de anticuerpo-fármaco e inmunotoxinas.

[0127] Puede usarse cualquier sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 como se describe en el presente documento. En determinadas modalidades, las secuencias VH, VL y / o CDR del sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 se proporcionan en la Tabla 1. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 es un scFv. En determinadas modalidades, el scFv comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81 y 82. En ciertas modalidades, el scFv comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81 y 82.

[0128] En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 representadas por las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente; y un dominio variable de cadena ligera que comprende secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 representadas por las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende un dominio variable de cadena pesada con una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37; y un dominio variable de cadena ligera con una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende un scFv que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntico a SEQ ID NO: 40 o SEQ ID NO: 39.

Receptores de antígenos quiméricos (CAR)

[0129] En determinadas modalidades, la presente invención proporciona un CAR

dirigido a FLT3 que comprende un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 como se describe en el presente documento (*ver, por ejemplo*, Tabla 1). El CAR dirigido a FLT3 puede comprender un fragmento Fab o un scFv.

[0130] El término "receptor de antígeno quimérico" o alternatively un "CAR" se refiere a una construcción polipeptídica recombinante que comprende al menos un dominio de unión a antígeno extracelular, un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular que comprende un dominio de señalización funcional derivado de una molécula estimulante (también denominada en este documento como un "dominio de señalización primario").

[0131] Por consiguiente, en determinadas modalidades, el CAR comprende un sitio de unión a antígeno extracelular que se une a FLT3 como se describe en el presente documento, un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular que comprende un dominio de señalización primario. En determinadas modalidades, el CAR comprende además uno o más dominios de señalización funcionales derivados de al menos una molécula coestimuladora (también denominada "dominio de señalización coestimulante").

[0132] En una modalidad, el CAR comprende una proteína de fusión quimérica que comprende un dominio de unión a FLT3 (p. ej., Dominio scFv de unión a FLT3) que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de un dominio variable de cadena pesada y CDR1, CDR2 y CDR3 de un dominio variable de cadena ligera enumerados en la Tabla 1 como un dominio de unión a antígeno extracelular, un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular que comprende un dominio de señalización primario. En una modalidad, el CAR comprende una proteína de fusión quimérica que comprende un dominio de unión a FLT3 (p. ej., Dominio scFv de unión a FLT3) que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de un dominio variable de cadena pesada y CDR1, CDR2 y CDR3 de un dominio variable de cadena ligera enumerados en la Tabla 1 como un dominio de unión a antígeno extracelular, un dominio transmembrana y un dominio intracelular dominio de señalización que comprende un dominio de señalización coestimulador y un dominio de señalización primario. En un aspecto, el CAR comprende una proteína de fusión quimérica que comprende un dominio de unión a FLT3 (p. ej., Dominio scFv de unión a FLT3) que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de un dominio variable de cadena pesada y CDR1, CDR2 y CDR3 de un dominio variable de cadena ligera enumerados en la Tabla 1 como un dominio de unión a antígeno extracelular, un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular que comprende dos dominios de señalización coestimuladores y un dominio de señalización primario. En una modalidad, el CAR comprende una proteína de fusión quimérica que comprende un dominio de unión a FLT3 que comprende CDR1,

CDR2 y CDR3 de un dominio variable de cadena pesada y CDR1, CDR2 y CDR3 de un dominio variable de cadena ligera enumerado en la Tabla 1 como extracelular dominio de unión a antígeno, un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular que comprende al menos dos dominios de señalización coestimuladores y un dominio de señalización primario.

[0133] Por ejemplo, en determinadas modalidades, el dominio de unión al antígeno extracelular comprende un sitio de unión al antígeno (p. ej., un scFv) que comprende un dominio variable de cadena pesada que comprende secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 representadas por las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 11, 4 y 5, respectivamente; y un dominio variable de cadena ligera que comprende secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 representadas por las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende un dominio variable de cadena pesada con una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37; y un dominio variable de cadena ligera con una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno comprende un scFv que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntico a SEQ ID NO: 40 o SEQ ID NO: 39.

[0134] Con respecto al dominio transmembrana, en varias realizaciones, el CAR está diseñado para comprender un dominio transmembrana que se fusiona con el dominio extracelular del CAR. En una modalidad, el dominio transmembrana es uno que está naturalmente asociado con uno de los dominios del CAR. En algunos casos, el dominio transmembrana puede seleccionarse o modificarse mediante sustitución de aminoácidos para evitar la unión de dichos dominios a los dominios transmembrana de las mismas proteínas de la superficie de la membrana o de diferentes proteínas para minimizar las interacciones con otros miembros del complejo receptor. En otra realización, el dominio transmembrana es capaz de homodimerización con otro CAR en la superficie de la célula T CAR. En otra realización, la secuencia de aminoácidos del dominio transmembrana puede modificarse o sustituirse para minimizar las interacciones con los dominios de unión

de la pareja de unión nativa presente en la misma célula CAR T.

[0135] El dominio transmembrana puede derivarse de cualquier proteína transmembrana o unida a la membrana de origen natural. En una modalidad, la región transmembrana es capaz de señalar al dominio o dominios intracelulares siempre que el CAR se haya unido a un objetivo. En algunas modalidades, el dominio transmembrana comprende la región o regiones trans-membrana de una o más proteínas seleccionadas del grupo que consiste en cadena α de TCR, cadena β de TCR, cadena ζ de TCR, CD28, CD3 ϵ , CD45, CD4, CD5, CD8, CD9., CD16, CD22, FLT3, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137 y CD154. En algunas modalidades, el do-minio transmembrana comprende la región o regiones transmembrana de una o más proteínas seleccionadas del grupo que consiste en KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1 (CD11a, CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD40, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160, CD19, IL2R β , IL2R γ , IL7R α , ITGA1, VLA1, CD49a4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (táctil), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1 , CD150, IPO-3), CULPA (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG / Cbp, NKG2D y NKG2C.

[0136] El dominio extracelular de unión a FLT3 (p. ej., Dominio scFv de unión a FLT3) se puede conectar al dominio transmembrana mediante una región bisagra. Se puede emplear una variedad de bisagras, que incluyen, entre otras, la bisagra de Ig humana (inmunoglobulina) (p. ej., una bisagra IgG4, una bisagra IgD), un enlazador Gly-Ser, un (G₄S)₄ enlazador, una bisagra KIR2DS2 y una bisagra CD8 α .

[0137] El dominio de señalización intracelular del CAR de la presente invención es responsable de la activación de al menos una de las funciones especializadas de la célula inmunitaria (p. ej., actividad citolítica o actividad auxiliar, incluida la secreción de citocinas, de una célula T) en la que se ha colocado el CAR. Por tanto, como se usa en el presente documento, el término "dominio de señalización intracelular" se refiere a la porción de una proteína que transduce una señal de función efectora y dirige a la célula para que realice una función especializada. Aunque normalmente se puede emplear todo el dominio de señalización intracelular, en muchos casos no es necesario utilizar la cadena completa. En la medida en que se utilice una porción truncada del dominio de señalización intracelular, dicha porción truncada se puede utilizar en lugar de la cadena intacta siempre que transduzca la señal de función efectora. Por tanto, el término dominio de señalización intracelular pretende incluir cualquier parte truncada del dominio de señalización

intracelular suficiente para transducir la señal de la función efectora.

[0138] El dominio de señalización intracelular del CAR comprende un dominio de señalización primario (*es decir*, un dominio de señalización funcional derivado de una molécula estimulante) y uno o más dominios de señalización coestimuladores (*es decir*, dominios de señalización funcional derivados de al menos una molécula coestimuladora).

[0139] Como se usa en este documento, el término "molécula estimuladora" se refiere a una molécula expresada por una célula inmunitaria, p. ej., una célula T, una célula NK o una célula B, que proporcionan la secuencia o secuencias de señalización citoplasmática que regulan la activación de la célula inmunitaria de forma estimulante durante al menos algunos aspectos de la vía de señalización de las células inmunitarias. En una modalidad, la señal es una señal primaria que se inicia, por ejemplo, mediante la unión de un complejo TCR / CD3 con una molécula MHC cargada con un péptido, y que conduce a la mediación de una respuesta de células T, que incluye, entre otros, proliferación, activación, diferenciación y similares.

[0140] Los dominios de señalización primarios que actúan de manera estimulante pueden contener motivos de señalización que se conocen como motivos de activación inmunorreceptores basados en tirosina o ITAM. Ejemplos de secuencias de señalización citoplasmática que contienen ITAM que son de uso particular en la presente invención incluyen aquellas derivadas de CD3 zeta, FcR gamma común (FCER1G), Fc gamma RIIa, FcR beta (Fc Epsilon R1b), CD3 gamma, CD3 delta, CD3 epsilon, CD79a, CD79b, DAP10 y DAP12. En una modalidad, el dominio de señalización primario en uno cualquiera o más CAR de la presente invención comprende una secuencia de señalización citoplásmica derivada de CD3-zeta.

[0141] En algunas modalidades, el dominio de señalización primario es un dominio de señalización funcional de TCR zeta, FcR gamma, FcR beta, CD3 gamma, CD3 delta, CD3 epsilon, CD5, CD22, CD79a, CD79b, CD66d, 4-1BB y / o CD3 -zeta. En una modalidad, el dominio de señalización intracelular comprende un dominio de señalización funcional de CD3 zeta, FcR gamma común (FCER1G), Fc gamma RIIa, FcR beta (Fc Epsilon R1b), CD3 gamma, CD3 delta, CD3 epsilon, CD79a, CD79b, DAP10 y / o DAP12. En una realización particular, el dominio de señalización primario es un dominio de señalización funcional de la cadena zeta asociada con el complejo receptor de células T.

[0142] Como se usa en el presente documento, el término "molécula coestimuladora" se refiere a una pareja de unión análoga en una célula T que se une específicamente con un ligando coestimulador, mediando así una respuesta coestimuladora por la célula T, tal como, pero sin limitarse a, la proliferación. Una molécula coestimuladora es una molécula de la superficie celular distinta de un receptor de antígeno

o sus ligandos que se requiere para una respuesta eficaz de los linfocitos a un antígeno. Ejemplos de tales moléculas incluyen CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40, CD30, CD40, PD-1, ICOS, antígeno 1 asociado a la función de los linfocitos (LFA-1, CD11a / CD18), CD2, CD7, CD258 (LIGHT), NKG2C, B7-H3 y un ligando que se une específicamente con CD83 y similares. Otros ejemplos de tales moléculas coestimuladoras incluyen CD5, ICAM-1, GITR, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRF1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160, CD19, CD4, CD8alpha, CD8beta, IL2R beta, IL2R gamma, IL7R alfa, ITGA4, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, NKG2D, NKG2C, TNFR2, TRANCE / RANKL, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (táctil), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), CD69, SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, LAT, GADS, SLP-76, PAG / Cbp y un ligando que se une específicamente con CD83. En algunas modalidades, el dominio de señalización coestimulador del CAR es un dominio de señalización funcional de una molécula coestimuladora descrita en este documento, por ejemplo, OX40, CD27, CD28, CD30, CD40, PD-1, CD2, CD7, CD258, NKG2C, B7-H3, un ligando que se une a CD83, ICAM-1, LFA-1 (CD11a / CD18), ICOS y 4-1BB (CD137), o cualquier combinación de los mismos.

[0143] Como se usa en este documento, el término "dominio de señalización" se refiere a la porción funcional de una proteína que actúa transmitiendo información dentro de la célula para regular la actividad celular a través de vías de señalización definidas generando segundos mensajeros o funcionando como efectores respondiendo a dichos mensajeros.

[0144] Las secuencias de señalización citoplasmática dentro de la porción de señalización citoplásmica del CAR de la presente invención pueden unirse entre sí en un orden aleatorio o especificado. Opcionalmente, un enlazador oligo o polipéptido corto, por ejemplo, de entre 2 y 10 aminoácidos de longitud puede formar el enlace.

[0145] Otro aspecto de la presente invención proporciona un ácido nucleico que codifica un CAR dirigido a FLT3 descrito en el presente documento. El ácido nucleico es útil para expresar el CAR en una célula efectora (p. ej., Célula T) al introducir el ácido nucleico en la célula.

[0146] Se pueden realizar modificaciones en la secuencia para crear una variante equivalente o mejorada de la presente invención, por ejemplo, cambiando uno o más de los codones de acuerdo con la tabla de degeneración de codones. En la Tabla 2 se proporciona una tabla de degeneración de codones de ADN.

Tabla 2.Codones de aminoácidos			
Aminoácidos	Código de una letra	Código de tres letras	Codones
Alanina	UN	Ala	GCA GCC GCG GCU
Cisteína	C	Cys	CGU UGU
Ácido aspártico	re	Áspid	GAC GAU
Ácido glutámico	mi	Glu	GAA MORDAZA
Fenilalanina	F	Phe	UUC UUU
Glicina	GRAMO	Gly	GGA GGC GGG GGU
Histidina	H	Su	CAC CAU
Isoleucina	yo	Yo asi	AUA AUC AUU
Lisina	K	Lys	AAA AAG
Leucina	L	Leu	UUA UUG CUA CUC CUG CUU
Metionina	METRO	Reunió	AGO
Asparagina	norte	Asn	CAA AAU
Prolina	PAGS	Pro	CCA CCC CCG CCU
Glutamina	Q	Gln	CAA CAG
Arginina	R	Arg	AGA AGG CGA CGC CGG CGU
Serina	S	Ser	AGC AGU UCA UCC UCG UCU
Treonina	T	Thr	ACA ACC ACG ACU
Valina	V	Val	GUA GUC GUG GUU
Triptófano	W	Trp	UGG
Tirosina	Y	Tyr	UAC UAU

[0147] En determinadas modalidades, el ácido nucleico es una molécula de ADN (p. ej., una molécula de ADNc). En determinadas modalidades, el ácido nucleico comprende además una secuencia de control de la expresión (p. ej., promotor y / o potenciador) operativamente enlazado a la secuencia de codificación CAR. En determinadas modalidades, la presente invención proporciona un vector que comprende el ácido nucleico. El vector puede ser un vector viral (p. ej., Vector AAV, vector lentiviral o vector adenoviral) o un vector no viral (p. ej., plásmido).

[0148] En determinadas modalidades, el ácido nucleico es una molécula de ARN (p. ej., una molécula de ARNm). Un método para generar ARNm para uso en transfección puede involucrar *in vitro* transcripción de una plantilla con cebadores especialmente diseñados, seguida de la adición de poliA, para producir una construcción de ARN que

contenga secuencias no traducidas 3' y 5', una tapa 5' y / o sitio de entrada de ribosoma interno (IRES), el ácido nucleico que se va a expresar, y una cola de poliA, típicamente de 50-2000 bases de longitud. La molécula de ARN se puede modificar adicionalmente para aumentar la eficiencia de traducción y / o la estabilidad, p. ej., como se describe en las Patentes de Estados Unidos N° 8.278.036; 8.883.506 y 8.716.465. Las moléculas de ARN así producidas pueden transfectar eficazmente diferentes tipos de células.

[0149] En una modalidad, el ácido nucleico codifica una secuencia de aminoácidos que comprende un péptido señal en el extremo amino del CAR. Dicho péptido señal puede facilitar la localización del CAR en la superficie celular cuando se expresa en una célula efectora y se escinde del CAR durante el procesamiento celular. En una modalidad, el ácido nucleico codifica una secuencia de aminoácidos que comprende un péptido señal en el extremo N del dominio de unión a FLT3 extracelular (p. ej., Dominio scFv de unión a FLT3).

[0150] Se puede introducir ARN o ADN en células objetivo usando cualquiera de varios métodos diferentes, por ejemplo, métodos disponibles comercialmente que incluyen, pero no se limitan a, electroporación, transfección mediada por liposomas catiónicos usando lipofección, encapsulación polimérica, transfección mediada por péptidos, o sistemas de suministro de partículas biolísticas tales como "pistolas de genes" (véase, por ejemplo, Nishikawa, *et al.* Hum Gene Ther., 12 (8): 861-70 (2001)).

[0151] Otro aspecto de la presente invención proporciona una célula efectora inmunitaria que expresa el CAR que se dirige a FLT3. También se proporciona una célula efectora inmunitaria que comprende el ácido nucleico que codifica el CAR dirigido a FLT3. Las células efectoras inmunes incluyen, pero no se limitan a, células T y células NK. En determinadas modalidades, la célula T se selecciona de un CD8⁺ Célula T, un CD4⁺ Célula T y una célula NKT. La célula T o la célula NK puede ser una célula primaria o una línea celular.

[0152] Las células efectoras inmunes pueden obtenerse de diversas fuentes, que incluyen células mononucleares de sangre periférica, médula ósea, tejido de los ganglios linfáticos, sangre del cordón umbilical, tejido del timo, tejido de un sitio de infección, ascitis, derrame pleural, tejido del bazo y tumores. por métodos conocidos en la técnica. Las células efectoras inmunes también se pueden diferenciar *in vitro* de una célula pluripotente o multipotente (p. ej., una célula madre hematopoyética). En algunas modalidades, la presente invención proporciona una célula pluripotente o multipotente (p. ej., una célula madre hematopoyética) que expresa el CAR que se dirige a FLT3 (p. ej., que expresa el CAR en la membrana plasmática) o que comprende un ácido nucleico descrito en este documento.

[0153] En determinadas modalidades, las células efectoras inmunitarias se aíslan y / o purifican. Por ejemplo, las células T reguladoras pueden eliminarse de una población de células T utilizando un ligando de unión a CD25. Células efectoras que expresan una proteína de punto de control (p. ej., PD-1, LAG-3 o TIM-3) se pueden eliminar mediante métodos similares. En determinadas modalidades, las células efectoras se aíslan mediante una etapa de selección positiva. Por ejemplo, una población de células T puede aislarse mediante incubación con perlas conjugadas anti-CD3 / anti-CD28. Otros marcadores de superficie celular, como IFN- γ , TNF- α , IL-17A, IL-2, IL-3, IL-4, GM-CSF, IL-10, IL-13, granzima B y perforina, también se puede utilizar para la selección positiva.

[0154] Las células efectoras inmunes se pueden activar y expandir generalmente usando métodos conocidos en la técnica, p. ej., como se describe en las Patentes de Estados Unidos N° 6.352.694; 6.534.055; 6.905.680; 6.692.964; 5.858.358; 6.887.466; 6.905.681; 7.144.575; 7.067.318; 7.172.869; 7.232.566; 7.175.843; 5.883.223; 6.905.874; 6.797.514; 6.867.041; y las Publicaciones de Solicitud de Patente de EE.UU. Nos. 2006/0121005 y 2016/0340406. Por ejemplo, en determinadas modalidades, las células T pueden expandirse y / o activarse por contacto con un anticuerpo anti-CD3 y un anticuerpo anti-CD28, en condiciones apropiadas para estimular la proliferación de las células T. Las células se pueden expandir en cultivo durante un período de varias horas (p. ej., aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 18, 21 horas) a aproximadamente 14 días (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 días). En una modalidad, las células se expanden durante un período de 4 a 9 días. Pueden ser deseables múltiples ciclos de estimulación para un cultivo celular prolongado (p. ej., cultivo por un período de 60 días o más). En ciertas modalidades, el cultivo celular comprende suero (por ejemplo, suero fetal bovino o humano), interleucina-2 (IL-2), insulina, IFN- γ , IL-4, IL-7, GM-CSF, IL-10, IL-12, IL-15, TGF β , TNF- α o una combinación de los mismos. Otros aditivos para el crecimiento de células conocidos por el experto en la materia, p. ej., tensioactivo, plasmanato y agentes reductores como N-acetil-cisteína y 2-mercaptoetanol, también se pueden incluir en el cultivo celular. En determinadas modalidades, la célula efectora inmunitaria de la presente invención es una célula obtenida de *in vitro* expansión.

[0155] Otras modalidades del CAR dirigido a FLT3 (p. ej., CAR regulable), el ácido nucleico que codifica el CAR y las células efectoras que expresan el CAR o que comprenden el ácido nucleico se proporcionan en las Patentes de EE. UU. N° 7.446.190 y 9.181.527, publicación de solicitud de patente estadounidense N° 2016/0340406 y 2017/0049819, y publicación de solicitud de patente internacional N° WO2018/140725.

Activadores de células T biespecíficos FLT3 / CD3 dirigidos

[0156] En determinadas modalidades, la presente invención proporciona un

activador de células T biespecífico dirigido a FLT3 / CD3 que comprende un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 descrito en el presente documento. En determinadas modalidades, el activador de células T biespecíficas dirigido a FLT3 / CD3 comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81 y 82. En determinadas modalidades, la citoquina está conectada al dominio Fc directamente o mediante un enlazador.

[0157] En ciertas modalidades, el activador de células T biespecífico dirigido a FLT3/CD3 comprende además un sitio de unión a antígeno que se une a CD3. Los sitios de unión a antígeno ejemplares que se unen a CD3 se describen en la publicación de solicitud de patente internacional N° WO2014/051433 y WO2017/097723.

[0158] Otro aspecto de la presente invención proporciona un ácido nucleico que codifica al menos un polipéptido del activador de células T biespecíficas dirigido a FLT3 / CD3, en el que el polipéptido comprende un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3. En determinadas modalidades, el ácido nucleico comprende además una secuencia de nucleótidos que codifica un péptido señal que, cuando se expresa, está en el extremo N-terminal de uno o más de los polipéptidos del activador de células T biespecífico dirigido a FLT3 / CD3. También se proporciona un vector (p. ej., un vector viral) que comprende el ácido nucleico, una célula productora que comprende el ácido nucleico o vector, y una célula productora que expresa el activador de células T biespecífico dirigido a FLT3 / CD3.

Inmunocitocinas

[0159] En determinadas modalidades, la presente invención proporciona una inmunocitoquina que comprende un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 descrito en el presente documento y una citocina. Cualquier citocina (p. ej., citocinas proinflamatorias) conocidas en la técnica, que incluyen, pero no se limitan a, IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, IL-15, TNF, IFN α , IFN γ y GM-CSF. Se describen citoquinas más ejemplares en la patente de EE.UU. n° 9.567.399. En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno está conectado a la citoquina mediante conjugación química (p. ej., conjugación química covalente o no covalente). En determinadas modalidades, el sitio de unión al antígeno está conectado a la citoquina mediante la fusión del polipéptido. La inmunocitoquina puede comprender además un dominio Fc conectado al sitio de unión al antígeno que se une a FLT3. En determinadas modalidades, la inmunocitoquina

comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81 y 82. En ciertas modalidades, la citoquina está conectada al dominio Fc directamente o mediante un enlazador.

[0160] Otro aspecto de la presente invención proporciona un ácido nucleico que codifica al menos un polipéptido de la inmunocitoquina, en el que el polipéptido comprende un sitio de unión al antígeno que se une a FLT3. En determinadas modalidades, el ácido nucleico comprende además una secuencia de nucleótidos que codifica un péptido señal que, cuando se expresa, está en el extremo N de uno o más de los polipéptidos de la inmunocitoquina. También se proporciona un vector (p. ej., un vector viral) que comprende el ácido nucleico, una célula productora que comprende el ácido nucleico o vector y una célula productora que expresa la inmunocitocina.

Conjugados anticuerpo-fármaco

[0161] En determinadas modalidades, la presente invención proporciona un conjugado anticuerpo-fármaco que comprende un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 descrito en este documento y un resto de fármaco citotóxico. Ejemplos de restos de fármacos citotóxicos se describen en las publicaciones de solicitud de patente internacional núms. WO2014 / 160160 y WO2015 / 143382. En determinadas modalidades, el resto de fármaco citotóxico se selecciona de auristatina, N-acetil-γ caliqueamicina, maitansinoide, pirrolobenzodiazepina y SN-38. El sitio de unión al antígeno se puede conectar al resto del fármaco citotóxico mediante conjugación química (p. ej., conjugación química covalente o no covalente). En determinadas modalidades, el conjugado anticuerpo-fármaco comprende además un dominio Fc conectado al sitio de unión al antígeno que se une a FLT3. En determinadas modalidades, el conjugado anticuerpo-fármaco comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81 y 82. En determinadas modalidades, el resto de fármaco citotóxico se conecta al dominio Fc directamente o mediante un enlazador.

Inmunotoxinas

[0162] En determinadas modalidades, la presente invención proporciona una

inmunotoxina que comprende un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 descrito en el presente documento y un resto peptídico citotóxico. Puede usarse cualquier resto de péptido citotóxico conocido en la técnica, incluyendo pero no limitado a ricina, *Difteria* toxina y *Pseudomonas* exotoxina A. Se describen péptidos citotóxicos más ejemplares en las publicaciones de solicitud de patente internacional núms. WO2012 / 154530 y WO2014 / 164680. En determinadas modalidades, el resto del péptido citotóxico se conecta a la proteína mediante conjugación química (p. ej., conjugación química covalente o no covalente). En determinadas modalidades, el resto de péptido citotóxico se conecta a la proteína mediante la fusión del polipéptido. La inmunotoxina puede comprender además un dominio conectado al sitio de unión al antígeno que se une a FLT3. En determinadas modalidades, la inmunotoxina comprende una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., al menos el 91 %, al menos el 92 %, al menos el 93 %, al menos el 94 %, al menos el 95 %, al menos el 96 %, al menos el 97 %, al menos el 98 %, al menos el 99 % o el 100 %) idéntica a una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID NO: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81 y 82. En determinadas modalidades, el resto de péptido citotóxico se conecta al dominio Fc directamente o mediante un enlazador.

[0163] Otro aspecto de la presente invención proporciona un ácido nucleico que codifica al menos un polipéptido de la inmunotoxina, en el que el polipéptido comprende un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3. En determinadas modalidades, el ácido nucleico comprende además una secuencia de nucleótidos que codifica un péptido señal que, cuando se expresa, está en el extremo N-terminal de uno o más de los polipéptidos de la inmunotoxina. También se proporciona un vector (p. ej., un vector viral) que comprende el ácido nucleico, una célula productora que comprende el ácido nucleico o vector, y una célula productora que expresa la inmunotoxina.

II. Composiciones terapéuticas y su uso

[0164] La presente invención proporciona métodos para tratar el cáncer usando un proteína, conjugado o células que comprenden un sitio de unión a antígeno descrito en este documento y / o una composición farmacéutica descrita en este documento. Los métodos se pueden usar para tratar una variedad de cánceres que expresan FLT3 administrando a un paciente que lo necesite una cantidad terapéuticamente efectiva de un proteína, conjugado o células que comprenden un sitio de unión a antígeno descrito en este documento.

[0165] El método terapéutico se puede caracterizar según el cáncer a tratar. Por ejemplo, en determinadas modalidades, el cáncer es una neoplasia maligna hematológica o leucemia. En determinadas modalidades, el cáncer es leucemia mieloide aguda (LMA),

leucemia linfoblástica aguda (LLA), mielodisplasia, síndromes mielodisplásicos, leucemia linfoblástica T aguda o leucemia promielocítica aguda, leucemia mielomonocítica crónica o crisis blástica mieloide de la leucemia mieloide crónica.

[0166] En determinadas modalidades, la AML es una enfermedad residual mínima (ERM). En determinadas modalidades, el MRD se caracteriza por la presencia o ausencia de una mutación seleccionada de FLT3-ITD ((tirosina quinasa 3 similar a Fms)-duplicaciones en tándem interno (ITD)), NPM1 (nucleofosmina 1), DNMT3A (gen de ADN metiltransferasa DNMT3A) e IDH (isocitrato deshidrogenasa 1 y 2 (IDH1 e IDH2)). En determinadas modalidades, el MDS se selecciona de MDS con displasia multilineaje (MDS-MLD), MDS con displasia de linaje único (MDS-SLD), MDS con sideroblastos de anillo (MDS-RS), MDS con exceso de blastos (MDS-EB), MDS con del (5q) aislado y MDS, sin clasificar (MDS-U). En determinadas modalidades, el MDS es un MDS primario o un MDS secundario.

[0167] En determinadas modalidades, la LLA se selecciona de leucemia linfoblástica aguda de células B (LLA-B) y leucemia linfoblástica aguda de células T (LLA-T). En determinadas modalidades, la MPN se selecciona de policitemia vera, trombocitemia esencial (ET) y mielofibrosis. En determinadas modalidades, el linfoma no Hodgkin se selecciona entre linfoma de células B y linfoma de células T. En determinadas modalidades, el linfoma se selecciona de leucemia linfocítica crónica (LLC), linfoma linfoblástico (LPL), linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), linfoma de Burkitt (BL), linfoma mediastínico primario de células B grandes (PMBL), linfoma folicular linfoma, linfoma de células del manto, leucemia de células pilosas, mieloma de células plasmáticas (PCM) o mieloma múltiple (MM), neoplasias T / NK maduras y neoplasias histiocíticas.

[0168] En determinadas modalidades, el cáncer es un tumor sólido. En ciertas otras realizaciones, el cáncer es cáncer de cerebro, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de cuello uterino, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de endometrio, cáncer de esófago, leucemia, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, melanoma, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata. , cáncer de recto, cáncer de riñón, cáncer de estómago, cáncer de testículo o cáncer de útero. En otras realizaciones más, el cáncer es un tumor vascularizado, carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, carcinoma de células pequeñas, melanoma, glioma, neuroblastoma, sarcoma (p. ej., un angiosarcoma o condrosarcoma), cáncer de laringe, cáncer de parótida, cáncer de vías biliares, cáncer de tiroides, melanoma lentiginoso acral, queratosis actínica, leucemia linfocítica aguda, leucemia mieloide aguda, carcinoma adenoide quístico, adenomas, adenosarcoma, carcinoma adenoescamoso, cáncer anal, cáncer de ano, tumor astrocítico, carcinoma de la glándula de Bartholin, carcinoma de células basales, cáncer biliar, cáncer de hueso, cáncer de médula ósea, cáncer bronquial, carcinoma de glándula bronquial, carcinoide,

colangiocarcinoma, condosarcoma, papiloma / carcinoma del plexo corioide, linfocito crónico, leucemia mieloide crónica, carcinoma de células claras, cáncer de tejido conectivo, cistadenoma, cáncer del sistema digestivo, cáncer de duodeno, cáncer del sistema endocrino, tumor del seno endodérmico, hiperplasia endometrial, sarcoma del estroma endometrial, adenocarcinoma endometrioide, cáncer de células endoteliales, cáncer de ependimario, cáncer de células epiteliales, sarcoma de Ewing, cáncer de ojo y órbita, cáncer genital femenino, hiperplasia nodular focal, cáncer de vesícula biliar, cáncer de antro gástrico, cáncer de fondo de ojo, gastrinoma, glioblastoma, glucagonoma, cáncer de corazón, hemangiblastomas, hemangioendotelioma, hemangiomas, adenoma hepático, adenomatosis hepática, cáncer hepatobiliar, carcinoma hepatocelular, enfermedad de Hodgkin, cáncer de íleon, insulinoma, neoplasia intraepitelial, neoplasia de células escamosas interepiteliales, cáncer de vías biliares intrahepáticas, carcinoma de células escamosas invasivo, cáncer de yeyuno, cáncer de articulaciones, cáncer de Kaposi, sarcoma de Kaposi carcinoma de células grandes, cáncer de intestino grueso, leiomiosarcoma, lentigo melanomas maligno, linfoma, cáncer genital masculino, melanoma maligno, tumores mesoteliales malignos, meduloblastoma, meduloepitelioma, cáncer meníngeo, cáncer mesotelial, carcinoma metastásico, cáncer de boca, mucoepidermoide carcinoma muscular, carcinoma mieloide múltiple cáncer, cáncer del tracto nasal, cáncer del sistema nervioso, adenocarcinoma neuroepitelial, melanoma nodular, cáncer de piel no epitelial, linfoma no Hodgkin, carcinoma de células de avena, cáncer oligodendrogial, cáncer de cavidad oral, osteosarcoma, adenocarcinoma seroso papilar, cáncer de pene, cáncer de faringe, tumores pituitarios, plasmacitoma, pseudosarcoma, blastoma pulmonar, cáncer de recto, carcinoma de células renales, cáncer del sistema respiratorio, retinoblastoma, rabdomiosarcoma, sarcoma, carcinoma seroso cáncer de seno, cáncer de piel, carcinoma de células pequeñas, cáncer de intestino delgado, cáncer de músculo liso, cáncer de tejido blando, tumor secretor de somatostatina, cáncer de columna, carcinoma de células escamosas, cáncer de músculo estriado, cáncer submesotelial, melanoma de extensión superficial, leucemia de células T, cáncer de lengua, carcinoma indiferenciado, cáncer de uréter, cáncer de uretra, cáncer de vejiga urinaria, cáncer del sistema urinario, cáncer de cuello uterino, cáncer de cuerpo uterino, melanoma uveal, cáncer de vagina, carcinoma verrugoso, VIPoma, cáncer de vulva, carcinoma bien diferenciado o tumor de Wilms.

[0169] En algunas otras realizaciones, el cáncer es un linfoma no Hodgkin, como un linfoma de células B o un linfoma de células T. En determinadas modalidades, el linfoma no Hodgkin es un linfoma de células B, tal como un linfoma difuso de células B grandes, linfoma mediastínico primario de células B, linfoma folicular, linfoma linfocítico pequeño, linfoma de células del manto, linfoma de células B de zona marginal. , linfoma de células B

de zona marginal extraganglionar, linfoma de células B de zona marginal nodal, linfoma de células B de zona marginal esplénica, linfoma de Burkitt, linfoma linfoplasmocítico, leucemia de células pilosas o linfoma primario del sistema nervioso central (SNC). En ciertas otras realizaciones, el linfoma no Hodgkin es un linfoma de células T, tal como un linfoma linfoblástico T precursor, células T periféricas linfoma, linfoma cutáneo de células T, linfoma angioinmunoblástico de células T, linfoma extraganglionar natural killer / linfoma de células T, linfoma de células T tipo enteropatía, linfoma de células T tipo paniculitis subcutánea, linfoma anaplásico de células grandes o linfoma periférico de células T .

[0170] El cáncer a tratar se puede caracterizar según la presencia de un antígeno particular expresado en la superficie de la célula cancerosa. En determinadas modalidades, la célula cancerosa puede expresar uno o más de los siguientes además de FLT3: CD2, CD19, CD20, CD30, CD38, CD40, CD52, CD70, EGFR / ERBB1, IGF1R, HER3 / ERBB3, HER4 / ERBB4, MUC1, TROP2, cMET, SLAMF7, PSCA, MICA, MICB, TRAILR1, TRAILR2, MAGE -A3, B7.1, B7.2, CTLA4 y PD1.

[0171] En realizaciones de la presente invención, el cáncer que se va a tratar se selecciona de leucemia mieloide aguda (LMA), síndrome mielodisplásico (MDS), leucemia linfoblástica aguda (LLA), neoplasias mieloproliferativas (MPN), linfoma, linfomas no Hodgkin y linfoma Hodgkin clásico.

[0172] En algunas realizaciones de la presente invención, el cáncer que se va a tratar es AML. En algunas realizaciones de la presente invención, la AML se selecciona de leucemia mieloblástica aguda indiferenciada, leucemia mieloblástica aguda con maduración mínima, leucemia mieloblástica aguda con maduración, leucemia promielocítica aguda (APL), leucemia mielomonocítica aguda, leucemia mielomonocítica aguda con eosinofilia aguda leucemia, leucemia eritroide aguda, leucemia megacarioblástica aguda (AMKL), leucemia basófila aguda, panmielosis aguda con fibrosis y neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (BPDCN). En algunas realizaciones de la presente invención, la AML se caracteriza por la expresión de CLL-1 en las células madre de leucemia (LSC) de AML. En algunas realizaciones de la presente invención, las LSC en un sujeto con AML expresan además un marcador de membrana seleccionado de CD34, CD38, CD123, TIM3, CD25, CD32 y CD96. En algunas realizaciones de la presente invención, la LMA se caracteriza como una enfermedad residual mínima (ERM). En algunas realizaciones de la presente invención, la MRD de AML se caracteriza por la presencia o ausencia de una mutación seleccionada entre *FLT3-ITD* ((Tirosina quinasa 3 similar a Fms) -Duplicaciones en tándem internas (ITD)), *NPM1* (Nucleofosmina 1), *DNMT3A* (Gen de la metiltransferasa de ADN *DNMT3A*) y *IDH* (Isocitrato deshidrogenasa 1 y 2 (IDH1 e IDH2)).

[0173] En ciertas modalidades de la presente invención, el cáncer es MDS

seleccionado de MDS con displasia multilineal (MDS-MLD), MDS con displasia de linaje único (MDS-SLD), MDS con sideroblastos de anillo (MDS-RS), MDS con exceso de blastos (MDS-EB), MDS con del 5q y MDS, sin clasificar (MDS-U).

[0174] Se contempla que el proteína, conjugado, células, y / o las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación se pueden usar para tratar una variedad de cánceres, sin limitarse a cánceres en los que las células cancerosas expresan FLT3. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el proteína, conjugado, células, y / o las composiciones farmacéuticas descritas en este documento se pueden usar para tratar cánceres que están asociados con células inmunes que expresan FLT3. FLT3 se expresa en muchos linajes mieloides y células mieloides infiltrantes de tumores (p. ej., macrófagos asociados a tumores) pueden contribuir a la progresión y metástasis del cáncer. Por lo tanto, los métodos descritos en este documento pueden usarse para tratar una variedad de cánceres en los que FLT3 se expresa, ya sea en células cancerosas o en células inmunes.

III. Terapia de combinación

[0175] Otro aspecto de la presente invención proporciona una terapia de combinación. Proteínas, conjugados y células que comprenden un sitio de unión a antígeno descrito en este documento. se puede usar en combinación con agentes terapéuticos adicionales para tratar el cáncer.

[0176] Los agentes terapéuticos ejemplares que pueden usarse como parte de una terapia de combinación en el tratamiento del cáncer, incluyen, por ejemplo, radiación, mitomicina, tretinoína, ribomustin, gemcitabina, vincristina, etopósido, cladribina, mitobronitol, metotrexato, doxorubicina, carbocina, pentostatina, nitracrina, zinostatina, cetorelix, letrozol, raltitrexed, daunorubicina, fadrozol, fotemustina, timalfasina, sobuzoxano, nedaplatino, citarabina, bicalutamida, vinorelbina, vesnarinona, aminoglutetimida, amsacrina, proglumida, eliplatino acetato, ketanserina, doxifluridina, etretinato, isotretinoína, estreptozocina, nimustina, vindesina, flutamida, drogenilo, butocina, carmofur, razoxano, sizofilan, carboplatino, mitolactol, tegafur, ifosfamida, prednimustina, picibanil, levamisol, teniposida, improsulfán, enocitabina, lisurida, oximetolona, tamoxifeno, progesterona, mepitiostano, epitioestanol, formestano, interferón-alfa, interferón-2 alfa, interferón-beta, interferón-gamma, factor estimulante de colonias-1 factor estimulante de colonias-2, denileucina difitox, interleucina-2, factor liberador de la hormona luteinizante y variaciones de los agentes antes mencionados que pueden presentar una unión diferencial a su receptor afín, y una vida media sérica mayor o menor

[0177] Una clase adicional de agentes que pueden usarse como parte de una terapia combinada para tratar el cáncer son los inhibidores de puntos de control inmunitarios. Los inhibidores de puntos de control inmunitarios ejemplares incluyen agentes que inhiben uno o más de (i) T citotóxico-antígeno 4 asociado a linfocitos

(CTLA4), (ii) proteína de muerte celular programada 1 (PD1), (iii) PDL1, (iv) LAG3, (v) B7-H3, (vi) B7-H4 y (vii) TIM3 . El inhibidor de CTLA4 ipilimumab ha sido aprobado por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos para el tratamiento del melanoma.

[0178] Sin embargo, otros agentes que pueden usarse como parte de una terapia de combinación para tratar el cáncer son los agentes de anticuerpos monoclonales que se dirigen a objetivos que no son puntos de control (p. ej., herceptin) y agentes no citotóxicos (p. ej., inhibidores de tirosina quinasa).

[0179] Otras categorías de agentes anticancerígenos incluyen, por ejemplo: (i) un inhibidor seleccionado de un inhibidor de ALK, un inhibidor de ATR, un antagonista de A2A, un inhibidor de reparación de escisión de base, un inhibidor de tirosina quinasa Bcr-Abl, una tirosina quinasa de Bruton Inhibidor, un inhibidor de CDC7, un inhibidor de CHK1, un inhibidor de quinasa dependiente de ciclina, un inhibidor de ADN-PK, un inhibidor de ADN-PK y mTOR, un inhibidor de DNMT1, un inhibidor de DNMT1 más 2-cloro-desoxiadenosina, un inhibidor de HDAC , un inhibidor de la vía de señalización Hedgehog, un inhibidor deIDO, un inhibidor de JAK, un inhibidor de mTOR, un inhibidor de MEK, un inhibidor de MELK, un inhibidor de MTH1, un inhibidor de PARP, un inhibidor de fosoinositido 3-quinasa, un inhibidor de PARP1 y DHODH, un inhibidor del proteasoma, un inhibidor de la topoisomerasa II, un inhibidor de la tirosina quinasa, un inhibidor del VEGFR y un inhibidor de WEE1; (ii) un agonista de OX40, CD137, CD40, GITR, CD27, HVEM, TNFRSF25 o ICOS;y (iii) una citoquina seleccionada de IL-12, IL-15, GM-CSF y G-CSF.

[0180] Las proteínas de la presente invención también se pueden usar como complemento de la extirpación quirúrgica de la lesión primaria.

[0181] La cantidad de proteína, conjugado o células descritas en este documento y el agente terapéutico adicional y el tiempo relativo de administración pueden seleccionarse para lograr un efecto terapéutico combinado deseado. Por ejemplo, cuando se administra una terapia de combinación a un paciente que necesita dicha administración, los agentes terapéuticos en la combinación, o una composición farmacéutica o composiciones que comprenden los agentes terapéuticos, pueden administrarse en cualquier orden, como, por ejemplo, secuencialmente, concurrentemente, juntos, simultáneamente y similares. Además, por ejemplo, una proteína, conjugado o célula descrita en este documento puede administrarse durante un tiempo en el que el o los agentes terapéuticos adicionales ejercen su efecto profiláctico o terapéutico, o viceversa.

IV. Composiciones farmacéuticas

[0182] La presente divulgación también presenta composiciones farmacéuticas que

contienen una cantidad terapéuticamente eficaz de una proteína descrita en el presente documento. La composición se puede formular para su uso en una variedad de sistemas de administración de fármacos. También se pueden incluir en la composición uno o más excipientes o vehículos fisiológicamente aceptables para una formulación adecuada. Las formulaciones adecuadas para usar en la presente descripción se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Filadelfia, Pensilvania, 17^a ed., 1985. Para una breve revisión de los métodos de administración de fármacos, consulte, p. ej., Langer (Science 249: 1527-1533, 1990).

[0183] En un aspecto, la presente divulgación proporciona una formulación de una proteína, que contiene un sitio de unión a FLT3 descrito en el presente documento, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[0184] En determinadas modalidades, la composición farmacéutica incluye una proteína que incluye un sitio de unión al antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión al antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al

menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 34. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene

una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72.

94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 77. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 90. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 94. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 96. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 105. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al

menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 107, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 108. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 116. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126. En determinadas modalidades, la formulación incluye una proteína que incluye un sitio de unión a antígeno con un dominio variable de cadena pesada que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131, y un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos el 90 % (p. ej., 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 83.

[0185] La composición se puede formular para su uso en una variedad de sistemas de administración de fármacos. Se pueden incluir uno o más excipientes o vehículos fisiológicamente aceptables en la composición para una formulación adecuada. Las formulaciones adecuadas para usar en la presente descripción se encuentran en

Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Filadelfia, Pensilvania, 17^a ed., 1985. Para una breve revisión de los métodos de administración de medicamentos, ver, p. ej., Langer (Science 249: 1527-1533, 1990).

[0186] Por ejemplo, la presente divulgación podría existir en una formulación farmacéutica acuosa que incluye una cantidad terapéuticamente efectiva de la proteína en una solución tamponada que forma una formulación. Los vehículos acuosos pueden incluir agua estéril para inyección (SWFI), agua bacteriostática para inyección (BWFI), una solución tamponada de pH (p.ej., solución salina tamponada con fosfato), solución salina estéril, solución de Ringer o solución de dextrosa. En determinadas modalidades, se prepara una formulación acuosa que incluye la proteína descrita en el presente documento en una solución tamponada con pH. El pH de las preparaciones estará típicamente entre 3 y 11, más preferiblemente entre 5 y 9 o entre 6 y 8, y lo más preferiblemente entre 7 y 8, tal como 7 a 7,5. También se pretende que los intervalos intermedios a los pH mencionados anteriormente sean parte de esta descripción. Por ejemplo, se pretende que se incluyan intervalos de valores que utilizan una combinación de cualquiera de los valores mencionados anteriormente como límites superior y / o inferior. Ejemplos de tampones que controlarán el pH dentro de este rango incluyen acetato (p. ej., acetato de sodio), succinato (como succinato de sodio), gluconato, histidina, citrato y otros tampones de ácidos orgánicos. En determinadas modalidades, el sistema tampón incluye ácido cítrico monohidrato, citrato de sodio, fosfato de disodio dihidrato y / o dihidrogenofosfato de sodio dihidratado. En ciertas modalidades, el sistema tampón incluye aproximadamente 1,3 mg / ml de ácido cítrico (p. ej., 1,305 mg / ml), aproximadamente 0,3 mg / ml de citrato de sodio (p. ej., 0.305 mg / mL), aproximadamente 1.5 mg / mL de fosfato disódico dihidratado (p.ej 1,53 mg / ml), aproximadamente 0,9 mg / ml de dihidrogenofosfato de sodio dihidrato (p. ej., 0,86) y aproximadamente 6,2 mg / ml de cloruro de sodio (p. ej., 6,165 mg / ml). En determinadas modalidades, el sistema tampón incluye 1-1,5 mg / ml de ácido cítrico, 0,25 a 0,5 mg / ml de citrato de sodio, 1,25 a 1,75 mg / ml de fosfato disódico dihidrato, 0,7 a 1,1 mg / ml de dihidrogenofosfato de sodio dihidrato. y 6,0 a 6,4 mg / ml de cloruro de sodio. El pH de la formulación líquida puede establecerse mediante la adición de un ácido y / o base farmacéuticamente aceptable. En determinadas modalidades, el ácido farmacéuticamente aceptable puede ser ácido clorhídrico. En determinadas modalidades, la base puede ser hidróxido de sodio.

[0187] En algunas modalidades, la formulación incluye un vehículo acuoso, que es farmacéuticamente aceptable (seguro y no tóxico para la administración a un ser humano) y es útil para la preparación de una formulación líquida. Los vehículos ilustrativos incluyen agua estéril para inyección (SWFI), agua bacteriostática para inyección (BWFI), una

solución tamponada de pH (p. ej., solución salina tamponada con fosfato), solución salina estéril, solución de Ringer o solución de dextrosa.

[0188] También se puede incluir en la formulación un poliol, que actúa como tonificante y puede estabilizar el anticuerpo. El poliol se añade a la formulación en una cantidad que puede variar con respecto a la isotonicidad deseada de la formulación. En determinadas modalidades, la formulación acuosa puede ser isotónica. La cantidad de poliol añadido también puede modificarse con respecto al peso molecular del poliol. Por ejemplo, una cantidad menor de un monosacárido (p. ej., manitol) puede ser adicionada, en comparación con un disacárido (como trehalosa). En determinadas modalidades, el poliol que se puede utilizar en la formulación como agente de tonicidad es manitol. En determinadas modalidades, la concentración de manitol puede ser de aproximadamente 5 a aproximadamente 20 mg / ml. En determinadas modalidades, la concentración de manitol puede ser de aproximadamente 7,5 a aproximadamente 15 mg / ml. En ciertas modalidades, la concentración de manitol puede ser de aproximadamente 10 a aproximadamente 14 mg / ml. En determinadas modalidades, la concentración de manitol puede ser de aproximadamente 12 mg / ml. En determinadas modalidades, el poliol sorbitol se puede incluir en la formulación.

[0189] También se puede añadir un detergente o tensioactivo a la formulación. Los detergentes ejemplares incluyen detergentes no iónicos tales como polisorbatos (p. ej., polisorbatos 20, 80 etc.) o poloxámeros (p. ej., poloxámero 188). La cantidad de detergente añadida es tal que reduce la agregación del anticuerpo formulado y / o minimiza la formación de partículas en la formulación y / o reduce la adsorción. En determinadas modalidades, la formulación puede incluir un tensioactivo que es un polisorbato. En determinadas modalidades, la formulación puede contener el detergente polisorbato 80 o Tween 80. Tween 80 es un término utilizado para describir polioxietileno (20) sorbitán (véase Fiedler, Lexikon der Hifsstoffe, Editio Cantor Verlag Aulendorf, 4ª ed., 1996). En determinadas modalidades, la formulación puede contener entre aproximadamente 0,1 mg / ml y aproximadamente 10 mg / ml de polisorbato 80, o entre aproximadamente 0,5 mg / ml y aproximadamente 5 mg / ml. En determinadas modalidades, se puede añadir a la formulación aproximadamente un 0,1 % de polisorbato 80.

[0190] En determinadas modalidades, la formulación líquida de la divulgación se puede preparar como una solución de concentración de 10 mg / ml en combinación con un azúcar a niveles estabilizadores. En determinadas modalidades, la formulación líquida se puede preparar en un vehículo acuoso. En determinadas modalidades, se puede añadir un estabilizador en una cantidad no mayor que la que puede dar como resultado una viscosidad indeseable o inadecuada para la administración intravenosa. En determinadas

modalidades, el azúcar puede ser disacáridos, p. ej., sacarosa. En determinadas modalidades, la formulación líquida también puede incluir uno o más de un agente tampón, un tensioactivo y un conservante, que se añade a las formulaciones de la presente para reducir la acción bacteriana. La adición de un conservante puede, por ejemplo, facilitar la producción de una formulación de usos múltiples (dosis múltiples).

[0191] En algunas modalidades, la presente divulgación proporciona una formulación con una vida útil prolongada que incluye la proteína de la presente divulgación, en combinación con manitol, ácido cítrico monohidrato, citrato sódico, fosfato disódico dihidrato, dihidrogenofosfato sódico dihidrato, cloruro sódico, polisorbato 80, agua e hidróxido de sodio.

[0192] La desamidación es una variante de producto común de péptidos y proteínas que puede ocurrir durante la fermentación, cosecha / clarificación celular, purificación, almacenamiento de sustancias / productos farmacéuticos y durante el análisis de muestras. La desamidación es la pérdida de NH_3 de una proteína que forma un intermedio de succinimida que puede sufrir hidrólisis. El intermedio de succinimida da como resultado una disminución de masa de 17 dalton del péptido original. La hidrólisis posterior da como resultado un aumento de masa de 18 dalton. El aislamiento del intermedio de succinimida es difícil debido a la inestabilidad en condiciones acuosas. Como tal, la desamidación es típicamente detectable como un aumento de masa de 1 dalton. La desamidación de una asparagina da como resultado ácido aspártico o isoaspártico. Los parámetros que afectan la velocidad de desamidación incluyen pH, temperatura, constante dieléctrica del solvente, fuerza iónica, secuencia primaria, conformación polipeptídica local y estructura terciaria. Los residuos de aminoácidos adyacentes a Asn en la cadena de péptidos afectan las tasas de desamidación. Gly y Ser que siguen una Asn en secuencias de proteínas dan como resultado una mayor susceptibilidad a la desamidación. En determinadas modalidades, la formulación líquida de la presente divulgación puede conservarse en condiciones de pH y humedad para evitar la desaminación del producto proteico.

[0193] En alguna realización, la formulación es una formulación liofilizada. En determinadas modalidades, la formulación se liofiliza (liofiliza) y se contiene en aproximadamente 12-60 viales. En determinadas modalidades, la formulación se liofiliza y un vial puede contener 45 mg de la formulación liofilizada. En ciertas modalidades, los aproximadamente 40 mg - aproximadamente 100 mg de formulación liofilizada están contenidos en un vial. En determinadas modalidades, la formulación liofilizada de 12, 27 o 45 viales se combinan para obtener una dosis terapéutica de la proteína en la formulación de fármaco intravenoso. La formulación puede ser una formulación líquida. En algunas modalidades, una formulación líquida se almacena desde aproximadamente 250 mg / vial hasta aproximadamente 1000 mg / vial. En determinadas modalidades, la formulación

líquida se almacena como aproximadamente 600 mg / vial. En determinadas modalidades, la formulación líquida se almacena en aproximadamente 250 mg / vial.

[0194] En algunas modalidades, la formulación liofilizada incluye las proteínas descritas en este documento y un lioprotector. El lioprotector puede ser azúcar, p. ej., disacáridos. En determinadas modalidades, el lioprotector puede ser sacarosa o maltosa. La formulación liofilizada también puede incluir uno o más de un agente tampón, un tensioactivo, un agente de carga y / o un conservante. La cantidad de sacarosa o maltosa útil para la estabilización del producto farmacéutico liofilizado puede estar en una relación en peso de al menos 1: 2 de proteína a sacarosa o maltosa. En determinadas modalidades, la relación en peso de proteína a sacarosa o maltosa puede ser de 1: 2 a 1: 5.

[0195] En determinadas modalidades, el pH de la formulación, antes de la liofilización, puede establecerse mediante la adición de un ácido y / o base farmacéuticamente aceptable. En determinadas modalidades, el ácido farmacéuticamente aceptable puede ser ácido clorhídrico. En determinadas modalidades, la base farmacéuticamente aceptable puede ser hidróxido de sodio. Antes de la liofilización, el pH de la solución que contiene la proteína de la presente divulgación puede ajustarse entre 6 y 8. En ciertas modalidades, el rango de pH para el producto farmacéutico liofilizado puede ser de 7 a 8.

[0196] En determinadas modalidades, se puede añadir un "agente de carga". Un "agente de carga" es un compuesto que agrega masa a una mezcla liofilizada y contribuye a la estructura física de la torta liofilizada (p. ej., facilita la producción de una torta liofilizada esencialmente uniforme que mantiene una estructura de poros abiertos). Los agentes de carga ilustrativos incluyen manitol, glicina, polietilenglicol y sorbitol. Las formulaciones liofilizadas de la presente invención pueden contener tales agentes de carga.

[0197] En determinadas modalidades, el producto proteico liofilizado está constituido por un portador acuoso. El vehículo acuoso de interés aquí es uno que es farmacéuticamente aceptable (p. ej., seguro y no tóxico para la administración a un ser humano) y es útil para la preparación de una formulación líquida, después de la liofilización. Los diluyentes ilustrativos incluyen agua estéril para inyección (SWFI), agua bacteriostática para inyección (BWFI), una solución tamponada de pH (p. ej., solución salina tamponada con fosfato), solución salina estéril, solución de Ringer o solución de dextrosa. En determinadas modalidades, el producto farmacéutico liofilizado de la descripción actual se reconstituye con agua estéril para inyección, USP (SWFI) o con cloruro de sodio al 0,9 % para inyección, USP. Durante la reconstitución, el polvo liofilizado

se disuelve en una solución. En ciertas modalidades, el producto proteico liofilizado de la presente divulgación se constituye en aproximadamente 4,5 ml de agua para inyección y se diluye con solución salina al 0,9 % (solución de cloruro de sodio).

[0198] Las composiciones de proteína pueden esterilizarse mediante técnicas de esterilización convencionales o pueden esterilizarse por filtración. Las soluciones acuosas resultantes pueden envasarse para su uso tal cual, o liofilizarse, combinándose la preparación liofilizada con un vehículo acuoso estéril antes de la administración. Las composiciones resultantes en forma sólida pueden empaquetarse en múltiples unidades de dosis única, cada una de las cuales contiene una cantidad fija del agente o agentes mencionados anteriormente. La composición en forma sólida también se puede envasar en un recipiente para una cantidad flexible.

[0199] Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden variar para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición y modo de administración en particular, sin ser tóxico para el paciente.

[0200] La dosis específica puede ser una dosis uniforme para cada paciente, por ejemplo, 50-5000 mg de proteína. Alternativamente, la dosis de un paciente se puede adaptar al peso corporal aproximado o al área de superficie del paciente. Otros factores para determinar la dosis apropiada pueden incluir la enfermedad o afección a tratar o prevenir, la gravedad de la enfermedad, la vía de administración y la edad, sexo y afección médica del paciente. Mayor refinamiento de los cálculos necesarios para determinar la dosis apropiada para el tratamiento los realizan de forma rutinaria los expertos en la técnica, especialmente a la luz de la información de dosis y los ensayos descritos en este documento. La dosis también se puede determinar mediante el uso de ensayos conocidos para determinar las dosis utilizadas junto con los datos de dosis-respuesta apropiados. La dosis de un paciente individual se puede ajustar a medida que se monitorea el progreso de la enfermedad. Se pueden medir los niveles en sangre de la construcción o del complejo objetivo en un paciente para ver si es necesario ajustar la dosis para alcanzar o mantener una concentración efectiva. La farmacogenómica se puede utilizar para determinar qué construcciones y / o complejos dirigibles, y las dosis de los mismos, tienen más probabilidades de ser eficaces para un individuo determinado (Schmitz *et al.*, *Clinica.Chimica.Acta*.308: 43 - 53, 2001; Steimer *et al.*, *Clinica.Chimica.Acta*.308: 33 - 41, 2001).

[0201] En general, las dosis basadas en el peso corporal son de acerca de 0,01 µg hasta acerca de 100 mg por kg de peso corporal, como acerca de 0,01 µg hasta acerca de

100 mg / kg de peso corporal, acerca de 0,01 µg hasta acerca de 50 mg / kg de peso corporal, acerca de 0,01 µg hasta acerca de 10 mg / kg de peso corporal, acerca de 0,01 µg hasta acerca de 1 mg / kg de peso corporal, acerca de 0,01 µg hasta acerca de 100 µg / kg de peso corporal, acerca de 0,01 µg hasta acerca de 50 µg / kg de peso corporal, acerca de 0,01 µg hasta acerca de 10 µg / kg de peso corporal, acerca de 0,01 µg hasta acerca de 1 µg / kg de peso corporal, acerca de 0,01 µg hasta acerca de 0,1 µg / kg de peso corporal, acerca de 0,1 µg hasta acerca de 100 mg / kg de peso corporal, acerca de 0,1 µg hasta acerca de 50 mg / kg de peso corporal, acerca de 0,1 µg hasta acerca de 10 mg / kg de peso corporal, acerca de 0,1 µg hasta acerca de 1 mg / kg de peso corporal, acerca de 0,1 µg hasta acerca de 100 µg / kg de peso corporal, acerca de 0,1 µg hasta acerca de 10 µg / kg de peso corporal, acerca de 0,1 µg hasta acerca de 1 µg / kg de peso corporal, acerca de 1 µg a acerca de 100 mg / kg de peso corporal, acerca de 1 µg a acerca de 50 mg / kg de peso corporal, acerca de 1 µg a acerca de 10 mg / kg de peso corporal, acerca de 1 µg a acerca de 1 mg / kg de peso corporal, acerca de 1 µg a acerca de 100 µg / kg de peso corporal, acerca de 1 µg a acerca de 50 µg / kg de peso corporal, acerca de 1 µg a acerca de 10 µg / kg de peso corporal, acerca de 10 µg hasta acerca de 100 mg / kg de peso corporal, acerca de 10 µg hasta acerca de 50 mg / kg de peso corporal, acerca de 10 µg hasta acerca de 10 mg / kg de peso corporal, acerca de 10 µg hasta acerca de 1 mg / kg de peso corporal, acerca de 10 µg hasta acerca de 100 µg / kg de peso corporal, acerca de 10 µg hasta acerca de 50 µg / kg de peso corporal, acerca de 50 µg hasta acerca de 100 mg / kg de peso corporal, acerca de 50 µg hasta acerca de 50 mg / kg de peso corporal, acerca de 50 µg hasta acerca de 10 mg / kg de peso corporal, acerca de 50 µg hasta acerca de 1 mg / kg de peso corporal, acerca de 50 µg hasta acerca de 100 µg / kg de peso corporal, acerca de 100 µg hasta acerca de 100 mg / kg de peso corporal, acerca de 100 µg hasta acerca de 50 mg / kg de peso corporal, acerca de 100 µg hasta acerca de 10 mg / kg de peso corporal, acerca de 100 µg hasta acerca de 1 mg / kg de peso corporal, acerca de 1 mg hasta acerca de 100 mg / kg de peso corporal, acerca de 1 mg hasta acerca de 50 mg / kg de peso corporal, acerca de 1 mg hasta acerca de 10 mg / kg de peso corporal, acerca de 10 mg hasta acerca de 100 mg / kg de peso corporal, acerca de 10 mg hasta acerca de 50 mg / kg de peso corporal, acerca de 50 mg hasta acerca de 100 mg / kg de peso corporal. Las dosis se pueden administrar una o más veces al día, semanalmente, mensualmente o anualmente, o incluso una vez cada 2 a 20 años. Las personas con conocimientos ordinarios de la técnica pueden estimar fácilmente los índices de repetición para la dosificación basándose en los tiempos de residencia medidos y las concentraciones de la construcción o el complejo seleccionable en los fluidos o tejidos corporales. La administración de la presente invención podría ser intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea, intrapleural, intratecal,

intracavitaria, por perfusión a través de un catéter o por inyección intralesional directa. Esto se puede administrar una o más veces al día, una o más veces a la semana, una o más veces al mes y una o más veces al año.

[0202] La descripción anterior describe múltiples aspectos y realizaciones de la presente invención. La solicitud de patente contempla específicamente todas las combinaciones y permutaciones de los aspectos y realizaciones.

[0203] A lo largo de la descripción, cuando se describe que las composiciones tienen, incluyen o comprenden componentes específicos, o cuando se describen procesos y métodos que tienen, que incluyen o comprenden etapas específicas, se contempla que, además, hay composiciones de la presente invención que consisten esencialmente en, o consisten en, los componentes enumerados, y que existen procesos y métodos de acuerdo con la presente invención que consisten esencialmente en, o consisten en, las etapas de procesamiento enumeradas.

[0204] En la solicitud, cuando se dice que un elemento o componente está incluido y / o seleccionado de una lista de elementos o componentes enumerados, debe entenderse que el elemento o componente puede ser cualquiera de los elementos o componentes enumerados, o el elemento o componente puede seleccionarse de un grupo que consta de dos o más de los elementos o componentes enumerados.

[0205] Además, debe entenderse que los elementos y / o características de una composición o un método descritos en el presente documento pueden combinarse de diversas formas sin apartarse del espíritu y alcance de la presente invención, ya sean explícitos o implícitos en el presente documento. Por ejemplo, cuando se hace referencia a un compuesto particular, ese compuesto puede usarse en diversas realizaciones de composiciones de la presente invención y / o en métodos de la presente invención, a menos que se entienda lo contrario a partir del contexto. En otras palabras, dentro de esta aplicación, las modalidades se han descrito y representado de una manera que permite escribir y dibujar una aplicación clara y concisa, pero se pretende y se apreciará que las realizaciones pueden combinarse o separarse de diversas formas sin separarse de las enseñanzas e invención (es). Por ejemplo, se apreciará que todas las características descritas y representadas en este documento pueden ser aplicables a todos los aspectos de la (s) invención (es) descritas y representadas en este documento.

[0206] Debe entenderse que la expresión "al menos uno de" incluye individualmente cada uno de los objetos recitados después de la expresión y las diversas combinaciones de dos o más de los objetos enumerados a menos que se entienda lo contrario por el contexto y el uso. La expresión "y/o" en relación con tres o más objetos enumerados debe entenderse que tiene el mismo significado a menos que se entienda lo contrario a partir del contexto.

[0207] El uso del término "incluyen", "incluye", "incluyendo", "tienen", "tiene", "teniendo", "contienen", "contiene" o "conteniendo", incluidos sus equivalentes gramaticales, debe entenderse generalmente como de final abierto y no limitativo, por ejemplo, sin excluir elementos o pasos adicionales no citados, a menos que se indique específicamente o se entienda lo contrario del contexto.

[0208] Cuando el uso del término "aproximadamente" está antes de un valor cuantitativo, la presente invención también incluye el valor cuantitativo específico en sí, a menos que se indique específicamente lo contrario. Como se usa en este documento, el término "aproximadamente" se refiere a una variación de $\pm 10\%$ del valor nominal a menos que se indique o se infiera lo contrario.

[0209] Debe entenderse que el orden de los pasos o el orden para realizar ciertas acciones es irrelevante mientras la presente invención siga siendo operativa. Además, se pueden realizar dos o más pasos o acciones simultáneamente.

[0210] El uso de cualquier o todos los ejemplos, o lenguaje ejemplar en el presente documento, por ejemplo, "tal como" o "incluido", está destinado simplemente a ilustrar mejor la presente invención y no supone una limitación en el alcance de la invención a menos que se reivindique. Ningún lenguaje en la especificación debe interpretarse como si indicara cualquier elemento no reivindicado como esencial para la práctica de la presente invención.

EJEMPLOS

[0211] Los siguientes ejemplos son meramente ilustrativos y no pretenden limitar el alcance o contenido de la invención de ninguna manera.

Ejemplo 1. Caracterización de sobrenadantes de clones de hibridomas seleccionado

[0212] Se generaron anticuerpos específicos de FLT3 inmunizando ratones con la proteína de fusión hFLT3-His. Se evaluó la unión de FLT3 de los sobrenadantes de 228 hibridomas mediante un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA), y 96 hibridomas se unieron de forma no covalente a la proteína hFLT3-His. Se seleccionaron once clones basándose en estimaciones preliminares de afinidad de unión por interferometría de biocapa (BLI), unión a células humanas y de mono cynomolgus que expresan FLT3, y diversidad de epítomos. La capacidad de estos 11 clones para unirse a hFLT3-His se analizó adicionalmente mediante resonancia de plasmón de superficie de alta resolución (SPR). El experimento se realizó a los 37 °C para imitar la temperatura fisiológica con un instrumento Biacore 8K. Los sensorgramas y parámetros cinéticos de Biacore se presentan en la Tabla 4 y los datos brutos y los ajustes se muestran en **FIG. 1**. Siete de once hibridomas unidos a K_D menos de 10 nM, y cinco muestran constante de tasa de disociación lenta ($K_d < 5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$).

[0213] La combinación de fusiones de hibridomas con mAb de referencia se realizó mediante BLI usando OctetRed384 (ForteBio). Brevemente, los sobrenadantes de hibridoma se cargaron en puntas de sensor de captura de IgG anti-ratón durante 15 minutos y se equilibraron durante 5 minutos en PBSF. Los sensores se sumergieron en hFLT3-His 200 nM y se dejaron asociar durante 180 segundos seguido de inmersión en IgG de control 100 nM o solución de ligando FLT3 200 nM. El aumento en las unidades de respuesta indicó que el hibridoma no competía con el mAb de referencia, mientras que ningún aumento en la señal indicó que el hibridoma competía con el mAb de referencia. FL23 (Amgen) y FL39 (Amgen) se unen al dominio 1. EB10 (ImClone), un bloqueador del ligando FLT3 conocido, se une al dominio 3. FL61 (Amgen) también se une al dominio 3, pero no es un bloqueador del ligando FLT3. 4G8 (Synimmune) se une al dominio 4. NC7 (Imclone) se une al dominio 5. Las secuencias VH y VL de estos anticuerpos de referencia se proporcionan en la Tabla 3.

Tabla 3. Anticuerpos de referencia

mAb α-FLT3	VH	VL
4G8 (Synimmune), descrito en la publicación de solicitud de EE. UU. Núm. 2015 / 0119555A1	QVQLQQPGAELVKPGASLKLCKS SGYTFTSYWMHWVRQRPGLGLEW IGEIDPSDSYKDYNQKFQDKATLTVD RSSNTAYMHLSSLTSDSDAVYYCA RAITTTDFDFWGQGTQLTV NOSS: 135	DIVLTQSPATLSVTPG DSVSLSCRASQSSINN LHWYQQKSHESPRLLI KYASQSIGIPSRFSG SGSGTDFTLSINSVET EDFGVYFCQQSNTWP YTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 136)
EB10 (ImClone / Lilly), divulgada en la publicación de solicitud de EE.	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCA SGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEW MGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTR DTSTSTVYMELSSLRSEDATVYYCA RGVGAHDAFDIWDGQGTITVTVSS (SEQ ID NO: 137)	DVVMTQSPSLSPVTP GEPASISCRSSQSLH SNGNNYLDWYLQKPG QSPQLLIYLGSRASG VPDRFSGSGSDTDF LQISRVEAEDVGVYYC MQGTHPAISFGQGR LEIK (SEQ ID NO: 138)
NC7 (Imclone / Lilly), divulgada en la publicación de solicitud de EE. UU. No. 2011 / 0008355A1	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCA SGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWM GGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADK STSTAYMELSSLRSEDATVYYCATF ALFGFREQAFDIWDGQGTITV NOSS: 139)	DIQMTQSPSSLSASV GDRVITICRASQSISS YLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISL QPEDLATYYCQQSYS TPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO: 140)
FL23 (Amgen), divulgada en la publicación de solicitud de EE. UU. No. 2017/0037149A1	QVTLKESGPALVKPTETLTCTVS GFSFRNARMGVSWIRQPPGKALEW LAHIFSNDEKSYSTSLKSRLTISKDT SKSQVVLTLTNMDPVDATYFCAR MPEYSSGWSGAFDIWDGQGTMTV SS (SEQ ID NO: 141)	DIQMTQSPSSLSASV GDRVITICRASQDIGY DLGWYQQKPGKAPK RLIYAASLTQSGVPSR FSGSGSGTEFTLISSL QPEDFATYYCLQHNS FPWTFGQGTKEIK (SEC ID NO: 142)

FL39 (Amgen), divulgada en la publicación de solicitud de EE. UU. Núm. 2017/0037149A 1	QVTLKESGPTLVKPTETLTCTLSG FSLNNARMGVSWIRQPPGKCLEWL AHIFSNDEKSYSTSLKNRLTISKDSS KTQVVLMTNVDPVDTATYYCARIV GYGSGWYGFFDYWGQGLTVTV NOSS (143)	DIQMTQSPSSLSASV GDRVITICRASQGIRN DLGWYQQKPGKAPK RLIYAASLTQSGVPSR FSGSGSGTEFTLTSS LQPEDFATYYCLQHN SYPLTFGCGTKVEIK (SEQ ID NO: 144)
FL61 (Amgen), divulgada en la publicación de solicitud de EE. UU. No. 2017/0037149A 1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAA SGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEW VAVISYDGSNEFYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARGGEITMVRGVIGYGGYGGMDVWG SQGTTVTVS: 145	DIQMTQSPSSLSASV GDRVITICRASQSISS YLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLTQSGVPSRF SGSGSGTEFTLTSS LQPEDFATYYCLQHNS YPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 146)

[0214] Se observó que los anticuerpos producidos a partir de cinco de los hibridomas, a saber 4A4, 11F4, 1A2, 4H2 y 13C9, no compitieron con ninguno de los anticuerpos de referencia por la unión a hFLT3-His. Se evaluó la reactividad cruzada con FLT3 de mono cynomolgus (cFLT3) midiendo la unión de los anticuerpos a células RMA isogénicas que expresan cFLT3.

[0215] Brevemente, las células RMA se transdujeron con un vector retroviral que codifica cFLT3 o FLT3 humano (hFLT3). La unión de los mAb α -FLT3 de las cosechas de hibridoma en bruto a las líneas celulares isogénicas hFLT3 o cFLT3, así como a las líneas celulares cancerosas FLT3 +, se realizó como sigue. Se añadieron 100.000 células RMA, REH o SEM por pocillo de una placa de fondo redondo de 96 pocillos. Las células se centrifugaron y el sedimento se disoció suavemente mediante agitación con vórtex. Se añadieron 50 μ l de colorante vivo / muerto Zombie (PBS + colorante 1: 2000) por pocillo y se incubaron en la oscuridad a temperatura ambiente durante 20 minutos. Las células se lavaron con 200 μ l de tampón FACS (PBS + FBS al 2 %). Se añadieron 50 μ l de sobrenadantes de hibridoma a las células lavadas y las mezclas se incubaron durante 30 minutos en hielo en la oscuridad. Las células se lavaron una vez y luego se añadieron 50 μ l de reactivo secundario anti-Fc-PE de ratón (dilución 1: 200) y se incubaron durante 20 minutos en hielo en la oscuridad. Las células se lavaron y fijaron con 50 μ l de paraformaldehído al 4 % durante 15 minutos en hielo. Las células se lavaron de nuevo y luego se resuspendieron en 200 μ l de tampón FACS y se almacenaron a 4 ° C hasta que estuvieron listas para la adquisición. Las muestras se procesaron en BD FACSCelesta equipado con un HTS (muestreador de alto rendimiento).

[0216] También se midieron las afinidades de unión de los sobrenadantes de hibridoma a las células cancerosas REH (número de catálogo ATCC CRL-8286), una línea celular de LLA humana que expresa FLT3. Como se muestra en la Tabla 4, la mayoría de

los clones mostraron afinidad de unión a las células cancerosas que expresan hFLT3 y reactividad cruzada con cFLT3. No se recopilaban los datos de unión de FLT3 de monoclonos para 14A5 y 15A11.

Tabla 4. Parámetros cinéticos y afinidades de la unión de FLT3-His a los anticuerpos producidos a partir de hibridomas candidatos

Artículos de prueba	Perfil de agrupamiento	SPR a 37 °C			MFI de unión celular		
		k_{un} (1/Sra.)	K_D (1/s)	K_D (Nuevo Méjico)	RMA-hFLT3	RMA-cFLT3	REH
4A4	único	$3,38 \times 10^5$	$3,35 \times 10^{-4}$	1.0	1493	2002	2002
11F4	único	$1,73 \times 10^5$	$1,88 \times 10^{-4}$	1.1	305	495	495
12H10	4G8	$1,74 \times 10^5$	$3,43 \times 10^{-4}$	2.0	544	696	696
15A11	EB10	$4,99 \times 10^5$	$1,17 \times 10^{-4}$	2.3	332	n / A	n / A
12C9	FL23	$5,67 \times 10^4$	$3,11 \times 10^{-4}$	5.4	1020	3937	664
1A2	único	$1,14 \times 10^5$	$7,49 \times 10^{-4}$	6.5	238	461	461
14A5	FL23	$1,70 \times 10^5$	$1,49 \times 10^{-3}$	8.7	1005	n / A	2071
4H2	único	$8,05 \times 10^4$	$9,18 \times 10^{-4}$	11	570	1017	1017
13C9	único	$2,12 \times 10^5$	$3,02 \times 10^{-3}$	14	546	834	834
8F02	FL23	$1,67 \times 10^5$	$2,80 \times 10^{-3}$	17	829	2729	2271
14H08	FL23	$1,29 \times 10^5$	$2,40 \times 10^{-3}$	19	959	3074	1776

Ejemplo 2. Análisis de anticuerpos murinos anti-FLT3 purificados

[0217] Sobre la base del análisis presentado anteriormente, se seleccionaron ocho hibridomas (4A4, 11F4, 12H10, 15A11, 12C09, 1A2, 14A5, 4H2) para subclonación y secuenciación. Se produjeron y analizaron dos subclones de cada hibridoma parental. Se determinó que las secuencias de cada hibridoma eran únicas. Cada subclon se purificó a partir del cultivo de hibridoma y la unión a hFLT3-His fue confirmada por SPR como se muestra en **FIG. 2**. Las constantes cinéticas y las afinidades de unión de hFLT3 a mAbs subclonados murinos purificados se muestran en la Tabla 5. La unión con anticuerpos de referencia se llevó a cabo usando el método descrito en el Ejemplo 1 y cuatro anticuerpos, a saber, 4A4.A3, 11F4.B9, 1A2.A3 y 4H2.E3, no compitió con ninguno de los anticuerpos de referencia para unirse a hFLT3-His.

Tabla 5: Parámetros cinéticos y afinidades de la unión de hFLT3 a subclones murinos purificados

Artículos de prueba	k_{un} (1 / Sra.)	K_D (1 / s)	K_D , (nM)
1A2.A3	$1,1 \times 10^5$	$8,9 \times 10^{-4}$	8.5
4A4.A3	$1,1 \times 10^5$	$8,2 \times 10^{-4}$	7.3
4H2.E3	$5,7 \times 10^4$	$1,0 \times 10^{-3}$	17,6
11F4.B9	$1,5 \times 10^5$	$2,5 \times 10^{-4}$	1,7
12C9.E5	$3,4 \times 10^4$	$6,3 \times 10^{-4}$	18,7
12H10.G7	$1,0 \times 10^5$	$5,5 \times 10^{-4}$	5.4
14A5.E8	$1,3 \times 10^5$	$1,9 \times 10^{-3}$	15,1
15A11.C8	$4,5 \times 10^4$	$4,8 \times 10^{-4}$	10,5

[0218] La unión celular de los mAb subclonados purificados se confirmó con líneas celulares de RMA que expresan FLT3 de mono cynomolgus y humano isogénico. Con la excepción de 12C9.E5, todos los clones unidos a la superficie celular expresaron FLT3 humano y de mono cynomolgus (Tabla 6). De manera similar, todos los subclones se unieron con alta afinidad a SEM (número de catálogo de DSMZ ACC 546), una línea celular de LLA humana que expresa FLT3.

Tabla 6: Confirmación de unión celular de mAb de ratón purificados a líneas celulares FLT3 RMA de mono cynomolgus y humano

Artículos de prueba	RMA-hFLT3 EC50 (nM)	RMA-hFLT3 MFI máx.	RMA-cFLT3 EC50 (nM)	RMA-cFLT3 MFI máx.	SEM EC50 (nM)	SEM Max MFI
1A2.A3	0,80	499	1,82	2834	5.47	1361
4A4.A3	0,72	1021	1.07	5566	3,29	2352
4H2.E3	0,66	696	1,56	3454	7.57	1510
11F4.B9	0,53	493	1,23	2589	2,43	1141
12C9.E5	NÓTESE BIEN*	nótese bien	nótese bien	nótese bien	nótese bien	nótese bien
12H10.G7	0,36	1136	0,94	5262	3,20	2831
14A5.E8	~ 2.07	415	1,25	1779	~ 1.07	1956
15A11.C8	0,41	1406	0,82	6512	~ 1,13	3861

Ejemplo 3. Propiedades de bloqueo de ligandos de anticuerpos murinos anti-FLT3 seleccionados

[0219] Este ejemplo se diseñó para caracterizar la capacidad de anticuerpos murinos anti-FLT3 seleccionados para bloquear las interacciones de FLT3 con el ligando de FLT3. La capacidad de los mAb α -FLT3 para unirse a células cancerosas EOL-1 que expresan FLT3 (número de catálogo DSMZ ACC 386) se probó antes y después de la adición de concentraciones saturantes de ligando FLT3 soluble. Para cada anticuerpo, su porcentaje de valor de bloqueo de ligando se calculó como la disminución en la señal de unión de mAb obtenida en presencia del ligando FLT3 en relación con la obtenida en ausencia del ligando FLT3 indicado. Se usó mAb EB10 bloqueador de ligando FLT3 conocido como control positivo. Como se muestra en **FIG. 3**, el 12H10.G7, 11F4.B9 y anticuerpos 4A4.A3, 14A5.E8 no interfirieron con la unión de FLT3 al ligando FLT3, mientras que el anticuerpo 15A11.C8 bloqueó la unión del ligando FLT3 a FLT3.

Ejemplo 4. Análisis de responsabilidad de secuencia putativa

[0220] Pasivos de secuencia potencial en CDR (identificados bajo Chothia) del 12H10.G7, 11F4.B9 y anticuerpos 4A4.A3, 14A5.E8 fueron examinaron. Se consideraron los siguientes pasivos potenciales: M (sitio de oxidación potencial);Motivo de secuencia NG, NS y NT (sitio de desamidación potencial);Motivo de secuencia DG, DS y DT (sitio de isomerización potencial);Motivo de secuencia DP (sitio potencial para la hidrólisis química).

Los resultados se resumen en la Tabla 7.

Tabla 7. Pasivos de secuencia putativos en las CDR de mAbs murinos seleccionados

ID de clonación	Motivo de responsabilidad de secuencia potencial	ubicación del motivo de responsabilidad de secuencia
12H10.G7	DS (sitio de isomerización)	CDRH3
14A5.E8	M (sitio de oxidación)	CDRL1
11F4.B9	M (sitio de oxidación), NS (desamidación)	CDRL1
	DP (hidrólisis química)	CDRL3
4A4.A3	ninguna	[En blanco]

[0221] Además, un posible riesgo de secuencia en M34, que cae dentro de CDRH1 de 12H10. También se identificó el G7 bajo Kabat. Se diseñaron variantes de estos anticuerpos para eliminar los supuestos motivos de riesgo de secuencia.

Ejemplo 5. Humanización y maduración de la afinidad

[0222] Según los datos recopilados sobre la cinética y la afinidad por la proteína hFLT3 recombinante, la unión a líneas celulares que expresan FLT3 humana y de mono cynomolgus, la unión a diferentes células cancerosas de LMA y LLA, el perfil de agrupación, así como la unión a ligando FLT3 no inhibido, cuatro subclones de hibridoma de ratón, a saber, 12H10.G7, 11F4.B9, 4A4.A3 y 14A5.E8, fueron seleccionados para humanización. Aunque 4A4.A3 y 14A5.E8 mostró afinidades ligeramente inferiores a hFLT3 que 12H10.G7 y 11F4.B9, estos anticuerpos parecían unirse a un epítipo único (sin bloqueo cruzado con anticuerpos de referencia) y al Dominio 1 de FLT3, respectivamente, y por lo tanto se analizaron adicionalmente para explorar la diversidad de epítipos.

[0223] El anticuerpo 12H10.G7 se humanizó para crear GB94 y GB102 como se describe *supra*, que compartían las mismas secuencias VH y VL. Se introdujeron mutaciones inversas en las regiones marco para crear variantes GB87 a GB93 y GB95 a GB101.

[0224] El anticuerpo 11F4.B9 se humanizó para crear 1153 y 1154 como se describió anteriormente, que compartían las mismas secuencias VH y VL. Se introdujeron mutaciones inversas en las regiones marco para crear las variantes 1151 y 1152. El anticuerpo 1153 también estuvo sujeto a maduración por afinidad. En resumen, se diseñó una biblioteca centrada en las CDR del 1553 FLT3 scFv y se mostró en la superficie de la levadura. La selección FACS se realizó dos veces incubando la levadura con biotinilada humana. Antígeno FLT3-His. Las muestras de salida enriquecidas con FACS se

combinaron con mutantes CDR adicionales para hacer una segunda biblioteca. Se llevaron a cabo dos rondas de selección FACS adicional titulando con FLT3-His humana biotinilada de 100 nM a 1 nM. La clasificación se realizó a 10 nM, donde se observó un claro aumento en la señal de la biblioteca en comparación con la original. Los clones de levadura clasificados se sembraron y se cribaron.

Ejemplo 6. Evaluación de la unión de anticuerpos a células expresadas en antígenos de cáncer humanos

[0225] Se utilizaron líneas celulares isogénicas que expresan ectópicamente FLT3 de mono cynomolgus y humano para evaluar la reactividad cruzada entre FLT3 de mono cynomolgus y humano. Se usó la línea celular de cáncer humano RMA que expresa hFLT3 o cFLT3 para evaluar la unión al antígeno tumoral de los anticuerpos que se unen a FLT3. Las líneas celulares de LMA humana MOLM-13 y MV4-11 y la línea celular de LLA humana REH se utilizaron para evaluar la capacidad de unión de los anticuerpos. En particular, se usaron células MOLM-13, que expresaban FLT3-T227M, para evaluar la capacidad del anticuerpo anti-FLT3 para unirse a un FLT3 mutante.

[0226] El mAb 1158, un anticuerpo monoclonal humanizado a partir de 12H10.G7 en el formato de IgG1 humana, se diluyó y se incubó con las células respectivas. A continuación, las células se incubaron con un anticuerpo secundario IgG antihumano conjugado con fluoróforo y se analizaron mediante citometría de flujo. Los valores de intensidad de fluorescencia media (MFI) se normalizaron con respecto a los controles de anticuerpo secundario únicamente para obtener valores de fondo (FOB) de doblez.

[0227] Como se muestra en **FIG. 4A** y **FIG. 4B**, 1158 mAb unido a células RMA que expresan ectópicamente FLT3 humano y cynomolgus con potencia equivalente. Como se muestra en **FIG. 4C**, Células REH unidas a mAb 1158, que eran células LLA humanas. Como se muestra en **FIG. 5**, 1158 mAb se unió a células MOLM-13, que expresaban FLT3-T227M.

[0228] Las células MV4-11, que expresaban FLT3-ITD, también se usaron para evaluar la capacidad del anticuerpo anti-FLT3 para unirse a un FLT3 mutante usando un método similar. Se observó que un anticuerpo biespecífico que contiene un sitio de unión al antígeno en forma de un scFv derivado de las células MV4-11 unidas a mAb 1158.

Ejemplo 7. Evaluación de la internalización de anticuerpos

[0229] La línea celular de cáncer humano EOL-1, derivada de leucemia eosinofílica, se usó para evaluar la internalización de FLT3 después de la incubación con 1158 mAb. Las células EOL-1 en placas duplicadas se incubaron con 1158 mAb o anticuerpo de control de isotipo hIgG1 a 37°C. °C durante dos horas. Después de la incubación, se lavaron las células y se tiñó el FLT3 total usando un anticuerpo anti-FLT3 no competitivo. La internalización de FLT3 se calculó de la siguiente manera:

% de internalización = $(1 - (\text{muestra MFI 2 horas} / \text{hIgG1 isotipo MFI 2 horas})) \times 100 \%$

[0230] La internalización de FLT3 después de la incubación con 1158 mAb en células REH, medida usando el método anterior, fue de aproximadamente 8,27 %. La internalización de FLT3 después de la incubación con 1158 mAb en células EOL-1, medida usando el método anterior, fue de aproximadamente 8,30 %.

Ejemplo 8. Ensayo de citotoxicidad de células NK humanas primarias

[0231] La lisis de las células objetivo se midió mediante el ensayo de citotoxicidad DELFIA. Brevemente, las líneas celulares de cáncer humano que expresan FLT3 se recogieron del cultivo, se lavaron con HBS y se resuspendieron en medio de crecimiento a 10^6 /mL para etiquetar con reactivo BATDA (Perkin Elmer C136-100). Se siguieron las instrucciones del fabricante para el etiquetado de las células objetivo. Después del marcaje, las células se lavaron tres veces con HBS y se resuspendieron a $0,5-1,0 \times 10^5$ /mL en medio de cultivo. Se añadieron 100 µl de células marcadas con BATDA a cada pocillo de la placa de 96 pocillos. El mAb 1158 se diluyó en medio de cultivo y se añadieron 50 µl de mAb diluido a cada pocillo.

[0232] Para preparar células NK, se aislaron PBMC de capas leucocíticas de sangre periférica humana usando centrifugación en gradiente de densidad, se lavaron y se prepararon para el aislamiento de células NK. Las células NK se aislaron usando una técnica de selección negativa con perlas magnéticas. La pureza de las células NK aisladas fue típicamente >90 % de CD3-CD56+. Las células NK aisladas se dejaron en reposo durante la noche y se recogieron del cultivo. A continuación, las células se lavaron y se resuspendieron a concentraciones de $10^5-2.0 \times 10^6$ /mL en medio de cultivo para una relación efector-objetivo (E: T) de 5: 1. Se agregaron 50 µl de células NK a cada pocillo de la placa para un total de 200 µl de cultivo.volumen. La placa se incubó a 37 °C con 5 % CO₂ durante 2-3 horas.

[0233] Después de la incubación, la placa se retiró de la incubadora y las células se sedimentaron mediante centrifugación a 200 xg durante 5 minutos. Se transfirieron 20 µl de sobrenadante de cultivo a una microplaca limpia y se añadieron a cada pocillo 200 µl de solución de europio a temperatura ambiente (Perkin Elmer C135-100). La placa se protegió de la luz y se incubó en un agitador de placas a 250 rpm durante 15 minutos, luego se leyó utilizando instrumentos SpectraMax i3X.

[0234] Se midió la liberación espontánea de sustancia que puede formar un quelato fluorescente con europio en células objetivo incubadas en ausencia de células NK. La liberación máxima de dicha sustancia se midió en células objetivo lisadas con Triton-X al 1 %. El % de lisis específica se calculó como sigue:

$$\% \text{ De lisis específica} = ((\text{liberación experimental} - \text{liberación espontánea}) / (\text{Liberación máxima} - \text{Liberación espontánea})) * 100 \%$$

[0235] **FIG. 6A-6D** muestran la actividad de 1158 mAb en la mejora de la muerte mediada por células NK primarias de líneas celulares de LMA humana o LLA EOL-1 (**FIG. 6A**), Reh (**FIG. 6B**), RS4-11 (**FIG. 6C**) y MV4-11 (**FIG. 6D**). El mAb 1158 aumentó la capacidad de las células NK para matar las células objetivo de una manera dependiente de la dosis.

Ejemplo 9. Evaluación de la unión de TriNKET o mAb a sangre humana completa

[0236] Se evaluó la capacidad de 1158 mAb para unirse a diferentes tipos de células sanguíneas. Brevemente, se incubó sangre completa humana con 1158 mAb o un anticuerpo de control de isotipo IgG1 humano. Las células sanguíneas se analizaron mediante citometría de flujo y se detectó la unión de 1158 mAb o el anticuerpo de control de isotipo usando un anticuerpo secundario IgG antihumano conjugado con fluoróforo.

[0237] No se observó unión significativa de 1158 mAb a granulocitos, monocitos, células B, células NK, células T CD8 + y células T CD4 + en la sangre.

Ejemplo 10. Activación de la señalización FLT3

[0238] La fosforilación de FLT3, un marcador de señalización de FLT3, se midió mediante ELISA pFLT3 (R&D Systems DY368). Las células EOL-1 se sembraron en placas de fondo redondo de 96 pocillos. Se añadieron 1158 mAb y / o FLT3L. Las muestras se incubaron a temperatura ambiente durante 5 minutos y se sedimentaron inmediatamente a 300 xg durante 5 minutos. Las células se lavaron dos veces con PBS. Los sedimentos celulares se resuspendieron en 200 µl de tampón de lisis nº 9 y se incubaron en hielo durante 15 minutos. Las muestras se sedimentaron a 2000 xg durante 5 minutos y los sobrenadantes se transfirieron a tubos de ensayo limpios. Las concentraciones de proteína se cuantificaron usando el ensayo de proteína total BCA. Las muestras se diluyeron en Diluyente IC nº 12 según fuera apropiado. Los lisados se midieron de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La concentración de pFLT3 en cada muestra se determinó por interpolación de valores de la curva estándar derivada. Los valores de densidad óptica de los estándares conocidos se trazaron frente a sus respectivas concentraciones y los datos se ajustaron a un modelo de regresión lineal.

[0239] Como se muestra en **FIG. 7A**, FLT3L condujo a un aumento de 3 veces en los niveles de pFLT3, mientras que 1158 mAb no indujo una fosforilación significativa de FLT3. **FIG. 7B** muestra que cuando las células se incubaron con 1158 mAb en combinación con FLT3L, 1158 mAb no inhibió la fosforilación de FLT3 inducida por FLT3L. Estos resultados fueron consistentes con la observación de que 1158 mAb no compitió con FLT3L para unirse a FLT3.

Incorporación por referencia

[0240] A menos que se indique lo contrario, la descripción completa de cada uno de

los documentos de patente y artículos científicos a los que se hace referencia en este documento se incorpora como referencia para todos los propósitos.

Equivalentes

[0241] La invención puede materializarse en otras formas específicas sin apartarse del espíritu o características esenciales de la misma. Por lo tanto, las anteriores deben considerarse en todos los aspectos ilustrativas más que limitantes de la invención aquí descrita. Por tanto, el alcance de la invención está indicado por las reivindicaciones adjuntas más que por la descripción anterior, y todos los cambios que entran dentro del significado y el rango de equivalencia de las reivindicaciones deben incluirse en las mismas.

LISTADO DE SECUENCIAS

SEQ ID NO.	DESCRIPTION	SEQUENCE
1	12H10.G7-VH	EVQLQESGP _{ELV} KPGASVKMSCKASGYTFTRYVMHWKQRPQG _{LEWI} GFINPYND _{DTKY} NEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSAVYHC ARWRQLGSLDSWGQGTTLTVSS
2	12H10.G7-VL	NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIY _{LASNLES} GV _{PARF} SGSGSRSDFTLTIDPVEADDAATYYCQQNN EEPWTFGGG _{TKLEIK}
3	scFv of 12H10.G7 GB87 (VH-VL) Humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV _{SCK} ASGYTFTRYVMHWVRQAPGQC _{LEWM} GFINPYND _{DTKY} NEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYHC ARWRQLGSLDSWGQGT _{TVT} VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQ SPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIY _L ASNLES _{GV} PDRFSGSGSR _{TDFT} LTIS _{SLQA} EDAATYYCQQNNEEPWTF GCGTKVEIK
4	12H10.G7-VH CDR2	NPYNDD
5	12H10.G7-VH CDR3	WRQLGSLDS
6	12H10.G7-VL CDR1	RASESVDTYGSSFVH
7	12H10.G7-VL CDR2	LASNLES
8	12H10.G7-VL CDR3	QQNNEEPWT
9	12H10.G7-VH Humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV _{SCK} ASGYTFTRYVMHWVRQAPGQR _{LEWM} GFINPYND _{DTKY} NEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYHC ARWRQLGSLDSWGQGT _{TVT} VSS
10	12H10.G7-VL Humanizado	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIY _{LASNLES} GV _{PDRF} SGSGSR _{TDFT} LTIS _{SLQA} EDAATYYCQQNN EEPWTFGGG _{TKVEIK}
11	Humanized 12H10.G7 GB87/GB95-VH CDR1	GYTFTRY
12	scFv of 12H10.G7 GB95 (VL-VH) Humanizado	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIY _{LASNLES} GV _{PDRF} SGSGSR _{TDFT} LTIS _{SLQA} EDAATYYCQQNN EEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKK PGASVKV _{SCK} ASGYTFTRYVMHWVRQAPGQC _{LEWM} GFINPYND _{DTKY} N EKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYHCA _{RWRQLGSLDSWG} QGT _{TVT} VSS

SEQ ID NO.	DESCRIPTION	SEQUENCE
13	12H10.G7 GB88/GB96-VH Humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSED ^U TAVYHC ARWRQLGSLDSWGQGT ^U TVTVSS
14	11F4.B9 Humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSFTGYIHWVRQGPQGQLEWM GEIIPSTGSTIYAQKFQGRVTMT ^U TRDTSTSTVYMELSSLRSED ^U TAVYYC ERWGDYYGRDYWGQGT ^U LVTVSS
15	scFv de 12H10.G7 GB88 (VH-VL) humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSED ^U TAVYHC ARWRQLGSLDSWGQGT ^U TVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQ SPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSS ^U SVHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPDRFSGSGSR ^U TDFTLT ^U ISSLQAEDAATYYCQQNNEEPWTF GCGTKVEIK
16	scFv de 12H10.G7 GB96 (VL-VH) humanizado	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSS ^U SVHWYQQKPGQPP KLLIY ^U LASNLESGVPDRFSGSGSR ^U TDFTLT ^U ISSLQAEDAATYYCQQNN EEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAEVKK PGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSED ^U TAVYH ^U CARWRQLGSLDSWG QGT ^U TVTVSS
17	12H10.G7 GB89/GB97-VH humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSED ^U TAVYYC ARWRQLGSLDSWGQGT ^U TVTVSS
18	región extracelular de hFLT3-ITD	NQDL ^U LPVIKCVLINHKNNDSSVGKSSSYPMVSESPEDLG ^U CALRPQSSGT VYEA ^U AAVEVDVSASITLQVLVDAPGNISCLWVFKHSSLNCQPHFDLQN RGV ^U VSMVILKMTETQAGEYLLFIQSEATNYTILFTVSIRNTLLYTLRR PYFRK ^U MENQDALVCISESVPEPIVEWVLCD ^U SQGESCKEESPAVVKKEE KVLHELFGTDIRCCARNELGRECTRLFTIDLNQTPQTTL ^U PQLFLKVG EPLWIRKAVHVNHGFGLTWEL ^U ENKALEEGNYFEMSTYSTNRTMIRILF AFVSSVARNDTGYTTCSSSKHPSQSALVTIVEKGFINATN ^U SS ^U EDYEID QYEEFCFSVRFKAYPQIRCTWTF ^U SRKSFPCEQKGLDNGYSISKFCNHK HQPGEYIFHAENDDAQFTKMFTLNIRKPKQVLAEASASQASCFSDGYP LPSWTWKKCSDKSPNCTEEITEGVWNRKANRKFVQWVSSSTLN ^U MS EAIKGF ^U LVKCCAYNSLGTSCETILLNSPGPF ^U FIQDNIS
19	scFv de 12H10.G7 GB89 (VH-VL) humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSED ^U TAVYYC ARWRQLGSLDSWGQGT ^U TVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQ SPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSS ^U SVHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPDRFSGSGSR ^U TDFTLT ^U ISSLQAEDAATYYCQQNNEEPWTF GCGTKVEIK
20	scFv de 12H10.G7 GB97 (VL-VH) humanizado	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSS ^U SVHWYQQKPGQPP KLLIY ^U LASNLESGVPDRFSGSGSR ^U TDFTLT ^U ISSLQAEDAATYYCQQNN EEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAEVKK PGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSED ^U TAVYYCARWRQLGSLDSWG QGT ^U TVTVSS
21	Secuencia de IgG1 Fc humana de tipo salvaje	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTI ^U SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS ^U DGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNV ^U FS ^U CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
22	12H10.G7 GB90/GB98-VL humanizado	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSS ^U SVHWYQQKPGQPP KLLIY ^U LASNLESGVPDRFSGSGSR ^U TDFTLT ^U ISSLQAEDAATYYCQQNN EEPWTFGGG ^U TKVEIK
23	scFv de 12H10.G7 GB90 (VH-VL) humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSED ^U TAVYHC ARWRQLGSLDSWGQGT ^U TVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQ SPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSS ^U SVHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPDRFSGSGSR ^U TDFTLT ^U ISSLQAEDAATYYCQQNNEEPWTF GCGTKVEIK

SEQ ID NO.	DESCRIPTION	SEQUENCE
24	scFv de 12H10.G7 GB98 (VL-VH) humanizado	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDAATYYCQNN EEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSED ^T AVYHCAWRQLGSLDSWG QGTTVTVSS
25	extracellular region de hFLT3-T227M	NQDLPIKCVLINHKNNDSVKGSSSYPMVSESPEDLGALRPQSSGT VYEA ^{AA} VEVDVSASITLQVLVDAPGNISCLWVFKHSSSLNCQPHFDLQN RGVVSMVILKMTETQAGEYLLFIQSEATNYTILFTVSIRNTLLYTLRR PYFRKMENQDALVCISESVPEPIVEWVLCDSQGESCKEESPAVVKKEE KVLHELFGMDIRCCARNELGRECTRLFTIDLNQTPQTTLPLQLFKVGE PLWIRCKAVHVNHGFLTWELNKALEEGNYFEMSTYSTNRTMIRILF AFVSSVARNDTGYYTCSSSKHPSQSALVTIVEKGFINATNSSDEYID QYEEFCFSVRFKAYPQIRCTWTFSRKSFPCEQKGLDNGYSISKFNHK HQPGEYIFHAENDDAQFTKMF ^T LNIRRK ^P QVLA ^E ASASQASCFSDGYP LPSWTWKKCSDKSPNCTEEITEGVWNRKANRKVFGQWVSSSTLN ^M SEA IKGFLVKCCAYNSLGTSCETILLNSPGPF ^P FIQDNIS
26	scFv de 12H10.G7-VL humanizado	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDAATYYCQNN EEPWTFGGGTKVEIK
27	scFv de 12H10.G7 GB91 (VH-VL) humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSED ^T AVYHC ARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGDIVMTQ SPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDAATYYCQNN ^E EPWTF GCGTKVEIK
28	scFv de 12H10.G7 GB99 (VL-VH) humanizado	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDAATYYCQNN EEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSED ^T AVYHCAWRQLGSLDSWG QGTTVTVSS
29	14A5.E8 consensus-VH humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCVSGYTFX ₁ X ₂ YWINWVRQX ₃ PGKX ₄ LE WMGNIYPGSSIIYNENFKNRVTMTX ₅ DTX ₆ DTAYMELSSLRSED ^T AV YCARRX ₇ VYX ₈ FDYWGQGLVTVSS, where X ₁ is P or T, X ₂ is S or Y, X ₃ is A or R, X ₄ is C or G, X ₅ is V or E, X ₆ is S or T, X ₇ is N or V, and X ₈ is T or Y
30	12H10.G7 GB92/GB100-VL humanizado	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDVATYYCQNN EEPWTFGGGTKVEIK
31	scFv de 12H10.G7 GB92 (VH-VL) humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSED ^T AVYHC ARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQ SPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDVATYYCQNN ^E EPWTF GCGTKVEIK
32	scFv de 12H10.G7 GB100 (VL-VH) humanizado	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDVATYYCQNN EEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSED ^T AVYHCAWRQLGSLDSWG QGTTVTV
33	4H2.E3-VH CDR2	NPYSDG
34	12H10.G7 GB93/GB101-VL humanizado	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDA ^{AA} VYYCQNN EEPWTFGGGTKVEIK
35	scFv de 12H10.G7	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSED ^T AVYHC

SEQ ID NO.	DESCRIPTION	SEQUENCE
	GB93 (VH-VL) humanizado	ARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQ SPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDA AVYYCQQNNEEPWTF GCGTKVEIK
36	scFv de 12H10.G7 GB101 (VL-VH) humanizado	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDA AVYYCQQNN EEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYH CARWRQLGSLDSWG QGTTVTVSS
37	Humanizado 12H10.G7 GB94/GB102-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS
38	Humanizado 12H10.G7 GB94/GB102-VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNN EEPWTFGGGKVEIK
39	scFv de humanizado 12H10.G7 GB94 (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQ SPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTF GCGTKVEIK
40	scFv de humanizado 12H10.G7 GB102 (VL-VH)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNN EEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARWRQLGSLDSWG QGTTVTVSS
41	Humanizado 12H10.G7 GB102 D101E-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARWRQLGSLESWGQGTTVTVSS
42	Humanizado 12H10.G7 GB102 -VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNN EEPWTFGCGTKVEIK
43	scFv de humanizado 12H10.G7 GB102 D101E (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARWRQLGSLESWGQGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQ SPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTF GCGTKVEIK
44	scFv de humanizado 12H10.G7 GB102 D101E (VL-VH)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNN EEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAEVKK PGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARWRQLGSLESWG QGTTVTVSS
45	Humanizado 12H10.G7 GB102 M34I-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVIHWVRQAPGQRLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS
46	14H8.E7-VL CDR3	QQWSSKSPT
47	scFv de humanizado 12H10.G7 GB102 M34I (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQ SPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYL ASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTF GCGTKVEIK
48	scFv de humanizado	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPP KLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNN

SEQ ID NO.	DESCRIPTION	SEQUENCE
	12H10.G7 GB102 M34I (VL-VH)	EEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWRQLGSLDSWG QGTTTVTVSS
49	Humanizado 12H10.G7 GB102 M34I/D101E-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVIHWVRQAPGQRLWWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSS
50	Humanizado 12H10.G7 GB102 M34I/D101E - CDR3	WRQLGSLDS
51	scFv de humanizado 12H10.G7 GB102 M34I/D101E (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTF GCGTKVEIK
52	scFv de humanizado 12H10.G7 GB102 M34I/D101E (VL-VH)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWRQLGSLDSWG QGTTTVTVSS
53	Humanizado 12H10.G7 consensus 1-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVX ₁ HWVRQAPGQRLWWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWRQLGSLX ₂ SWGQGTTTVTVSS, where X ₁ is M or I, and X ₂ is E or D
54	Humanizado 14A5.E8 consensus VH CDR3	RX ₁ VYLX ₂ FDY, where X ₁ is N or V, and X ₂ is T or Y
55	Humanizado 12H10.G7 consensus 1-VH CDR3	WRQLGSLXS, where X is E or D
56	Humanizado 12H10.G7 consensus 2 -VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRLWWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITX ₁ DTASTAYMELSSLRSEDTAVYX ₂ CARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSS, where X ₁ is S or R, and X ₂ is Y or H
57	Humanizado 12H10.G7 consensus 2 -VL	DIVMTQSPX ₁ SLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSX ₂ TDFTLTISSLQAEDX ₃ AX ₄ YYCQQNNEEPWTFGGGTKVEIK, where X ₁ is A or D, X ₂ is R or G, and X ₃ is A or V, and X ₄ is T or V
58	Humanizado 12H10.G7 consensus 3-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVX ₁ HWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWRQLGSLX ₂ SWGQGTTTVTVSS, where X ₁ is M or I, and X ₂ is E or D
59	Humanizado 14A5.E8 consensus VH CDR1	GYTFX ₁ X ₂ Y, where X ₁ is P or T, and X ₂ is S or Y
60	14A5.E8-VH	EVQLQESGAELVQPGASVRLSCKASGYTFTSYWINWVKQRPGQGLEWIGNIYPGSSIIYNENFNKRNATLTVDTSSTAYMQLSSLTSDSDAVYYCARRVVLYFDYWGQGTTTLTVSS
61	14A5.E8-VL	QIVLTQSPAISASPGKEVTMTCSASSSVSYMHYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSEAEADAATYYCQQWTSKSPTFGGGTKLEIK
62	14A5.E8-VH CDR1	GYTFTSY

SEQ ID NO.	DESCRIPTION	SEQUENCE
63	14A5. E8-VH o Humanizado 14A5. Consenso E8 VH CDR2	YPGSSI
64	14A5. E8-VH CDR3	RVVYLYFDY
65	14A5. E8-VL CDR1	SASSSVSYMH
66	14A5. E8-VL o Humanizado 14A5. E8 consensus VL CDR2	DTSKLAS
67	14A5. E8-VL o Humanizado 14A5. E8 consensus VL CDR3	QQWTSKSPT
68	Humanizado 14A5. E8 1551/1552-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSVCKVSGYTFTSYWINWVRQRPKGKLEWM GNIYPGSSIIYNENFNKRVMTMTVDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARRVYLYFDYWGQGLTVTVSS
69	Humanizado 14A5. E8 1551/1552-VL	EIVLTQSPATLSLSPGEKATLSCSASSSVSYMHYQQKPGQAPRLLIY DTSKLAGIPARFSGSGSGTSFTLTISSELPEDAAYYYCQQWTSKSPT FGGGTKVEIK
70	scFv de humanizado 14A5. E8 1551 (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSVCKVSGYTFTSYWINWVRQRPKGKLEWM GNIYPGSSIIYNENFNKRVMTMTVDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARRVYLYFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSEIVLTQ SPATLSLSPGEKATLSCSASSSVSYMHYQQKPGQAPRLLIYDTSKLA SGIPARFSGSGSGTSFTLTISSELPEDAAYYYCQQWTSKSPTFGCGTK VEIK
71	scFv de humanizado 14A5. E8 1552 (VL-VH)	EIVLTQSPATLSLSPGEKATLSCSASSSVSYMHYQQKPGQAPRLLIY DTSKLAGIPARFSGSGSGTSFTLTISSELPEDAAYYYCQQWTSKSPT FGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASV KVSVCKVSGYTFTSYWINWVRQRPKGKLEWMGNIYPGSSIIYNENFNK RVMTMTVDTSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRVYLYFDYWGQGLTV TVSS
72	Humanizado 14A5. E8 1553/1554-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSVCKVSGYTFTSYWINWVRQAPGKLEWM GNIYPGSSIIYNENFNKRVMTMTEDTSTDAYMELSSLRSEDTAVYYC ARRVYLYFDYWGQGLTVTVSS
73	Humanizado 14A5. E8 1553/1554-VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHYQQKPGQAPRLLIY DTSKLAGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQWTSKSPT FGGGTKVEIK
74	scFv de humanizado 14A5. E8 1553 (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSVCKVSGYTFTSYWINWVRQAPGKLEWM GNIYPGSSIIYNENFNKRVMTMTEDTSTDAYMELSSLRSEDTAVYYC ARRVYLYFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSEIVLTQ SPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHYQQKPGQAPRLLIYDTSKLA SGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQWTSKSPTFGCGTK VEIK
75	scFv de humanizado 14A5. E8 1554 (VL-VH)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHYQQKPGQAPRLLIY DTSKLAGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQWTSKSPT FGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGASV KVSVCKVSGYTFTSYWINWVRQAPGKLEWMGNIYPGSSIIYNENFNK RVMTMTEDTSTDAYMELSSLRSEDTAVYYCARRVYLYFDYWGQGLTV TVSS
76	Humanizado 14A5. E8 1689-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSVCKVSGYTFPYWINWVRQAPGKLEWM GNIYPGSSIIYNENFNKRVMTMTEDTSTDAYMELSSLRSEDTAVYYC ARRVYLTFDYWGQGLTVTVSS
77	Humanizado 14A5. E8 1689-VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYIHWHYQQKPGQAPRLLIY DTSKLAGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQWTSKSPT FGGGTKVEIK

SEQ ID NO.	DESCRIPTION	SEQUENCE
78	Humanizado 14A5.E8 1689-VH CDR1	GYTFPYY
79	Humanizado 14A5.E8 1689-VH CDR3	RNVYLTFDY
80	Humanizado 14A5.E8 1689-VL CDR1	SASSSVSYIH
81	scFv de humanizado 14A5.E8 1689 (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKVSGYTFPYYWINWVRQAPGKCLEWM GNIYPGSSIIYNENFNKRVMTMTEDTSTDATAYMELSSLRSEDTAVYYC ARRNVYLTFDYWGQGTLLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGS EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYIHWYQQKPGQAPRLLIY DTSKLAGIPARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCQQWTSKSPT FGCGTKVEIK
82	scFv de humanizado 14A5.E8 1689 (VL-VH)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYIHWYQQKPGQAPRLLIY DTSKLAGIPARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCQQWTSKSPT FGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASV KVSKVSGYTFPYYWINWVRQAPGKCLEWMGNIYPGSSIIYNENFNK RVMTMTEDTSTDATAYMELSSLRSEDTAVYYCARRNVYLTFDYWGQGTLL TVSS
83	14H8.E7-VL	QIVLTQSPAIMASAPGEKVTMTCSASSSVSYMHYQQKSGTSPKRWIF DTSKLAGVPPVRFSGSGSGTSYSLTITNMTEDATYYCQQWSSKSPT FGGGTKLEIK
84	Humanizado 14A5. Consenso E8 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYXHWYQQKPGQAPRLLIY DTSKLAGIPARFSGSGSGTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCQQWTSKSPT FGGGTKVEIK, where X is M or I
85	11F4.B9-VH	EVQLQESGPGLVKPGASVKISKASGYSFTGYYIHWVKQGPEKSLEWI GEIIPSTGSTIYNQKFKAKATLTVDKSSSTAYLQLKSLTSEDSAVYYC ERWGDYYGRDYWGQGTSTVTVSS
86	Humanizado 14A5. Consenso E8 VL CDR1	SASSSVSYXH, where X is M or I
87	11F4.B9-VH CDR1	GYSFTGY
88	11F4.B9-VH CDR2	IPSTGS
89	11F4.B9-VH CDR3	WGDYYGRDY
90	11F4.B9-VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDIYGNFSFMHWYQQKPGQPP KLLIYRASNLSEGPVRFSGSGSRDFTLTINPVEADDVATYYCQQSN EDPRTFGGGTKLEIK
91	11F4.B9-VL CDR1	RASESVDIYGNFSFMH
92	11F4.B9-VL CDR2	RASNLES
93	11F4.B9-VL CDR3	QQSNEDPRT
94	Humanizado 11F4.B9-VL	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDIYGNFSFMHWYQQKPGQPP KLLIYRASNLSEGPVRFSGSGSRDFTLTINSLQAEDVATYYCQQSN EDPRTFGGGTKVEIK
95	4A4.A3-VH	QVTLKESGPGILQPSQTLSTLTCFSGFSLTTYGMGVGWIRQPSGKGLE WLANIWFNDNKYYNSTLKSRLTISKDTSNNQVFLKISSVDTTDTATYY CAQITTVVGTFDYWGQGSPLTVSP
96	4A4.A3-VL	RIVMTQSPTTMAASPGKITITCSASSSISSIIYLHWYQQKPGFSPKLL IFRTSDLASGVPPRFSGSGSGTSYSLTIGTMEADVATYYCQQGSSFP RTFGGGTKLEIK
97	4A4.A3-VH CDR1	GFSLTTYGM
98	4A4.H7-VH CDR2	YPNTGI
99	4A4.A3-VH CDR2	WFNDN
100	4A4.A3-VH CDR3	ITTVVGTFDY
101	4A4.A3-VL CDR1	SASSSISSIIYLH
102	4A4.A3-VL CDR2	RTSDLAS

SEQ ID NO.	DESCRIPTION	SEQUENCE
103	4A4.A3-VL CDR3	QQGSSFPRT
104	4A4.H7-VH	EVQLQESGPPELVKPGASVKISCKASGYSTGYIHWVKQSPPEESLEWI GEIYPNTGITTYNQKFTAKATLTVDKSSNTAYMQLKSLTSEDSAVYYC TRWGDYYGRDYWGQGTSTVTVSS
105	4A4.H7-VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASETVDTHGNSFMHWYQQKPGQPP KLLIYRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSN EDPRTFGGGTKLEIK
106	4A4.H7-VL CDR1	RASETVDTHGNSFMH
107	15A11.C8-VH	EVQLQESGGGLVKTGGSRKLSAASGFTFSDYGMHWVRHTPEKGLEWV VYISSGGNTIFYTDTVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDVAVYYC VRQGYYYAMDYWGQGSVTVSS
108	15A11.C8-VL	DIQMTQTSSLSASLGDRVTIRCRAEQDITNYLNWYQQKPDGAVKLLI SYTSILQSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQGDVATYFCQQGSSLPW TFGGGTKEIK
109	15A11.C8-VH CDR1	GFTFSDY
110	15A11.C8-VH CDR2	SSGGNT
111	15A11.C8-VH CDR3	QGYYYAMDY
112	15A11.C8-VL CDR1	RASQDITNYLN
113	15A11.C8-VL CDR2	YTSILQS
114	15A11.C8-VL CDR3	QQGSSLPWT
115	12C9.E5-VH	EVQLQESGAELVRPGASVKLSCKASGYIFTDYEIHWVKQTPVHGLEWI GAIDPETGITAYSQKFKGKATLTDTSSSTAYMEFRSLTSEDSAVYYC TRGGLLYWGQGTSTVTVSS
116	12C9.E5-VL	DVVMQTPLSLSVTIGQPASISCKSSQSLLYSDGETYLNWLQQRPGQS PKRLMYQVSKLDPGIPDRFSGSGSETDFTLKISRVEAEDLGIYYCLQG TFYPHTFGGGTKLEIK
117	12C9.E5-VH CDR1	GYIFTDY
118	12C9.E5-VH CDR2	DPETGI
119	12C9.E5-VH CDR3	GGLLY
120	12C9.E5-VL CDR1	KSSQSLLYSDGETYLN
121	12C9.E5-VL CDR2	QVSKLDP
122	12C9.E5-VL CDR3	LQGTFFYPHT
123	1A2.A3 VH	EVQLQESGPPELVKPGASVKISCKASGYSTGYIHWVKQSPPEESLEWI GEIYPNTGITTYNQKFTAKATLTVDKSSNTAYMQLKSLTSEDSAVYYC TRWGDYYGRDYWGQGTSTVTVSS
124	1A2.A3-VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASETVDTHGNSFMHWYQQKPGQPP KLLIYRASNLESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYCQQSN EDPRTFGGGTKLEIK
125	4H2.E3-VH	EVQLQESGPPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYLMHWMKQKPGQGLEWI GYINPYSDGIKYNEKFRDKATLTSDKSSNTAYMELSSLTSEDSAVYYC AHSSGYVGYAMDYWGQGTSTVTVSS
126	4H2.E3-VL	GIVMTQTTSPVPVTPGESVSISSCRSSKSLHNSNGNTYLYWFLQRPQGS PQLLIYRMSNLASGVDPDRFSGSGSGTTFTLRISRVEAEDVGVYYCMQH LEYPFTFGSGTKLEIK
127	4H2.E3-VH CDR3	SSGYVGYAMDY
128	4H2.E3-VL CDR1	RSSKSLHNSNGNTYLY
129	4H2.E3-VL CDR2	RMSNLAS
130	4H2.E3-VL CDR3	MQHLEYPFT
131	14H8.E7-VH	EVQLQESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTNYWINWLKQRPQGLEWI GNIYPGSTIINYNEKFKNKATLTVDTSSTAYMQLSSLTSDDSAVYYC ARRVVYLYFDSWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO.	DESCRIPTION	SEQUENCE
132	14H8.E7-VH CDR1	GYTFTNY
133	14H8.E7-VH CDR2	YPGSTI
134	14H8.E7-VH CDR3	RVVYLYFDS
135	Alfa- FLT3 mAb - 4G8 (Synimmune) VH	QVQLQQPGAELVKPGASLKLSCKSSGYTFTSYWMHWVRQRPBGHLEWI GEIDPSDSYKDYNQKFKDKATLTVDRSSNTAYMHLSSLTSDDSAVYYC ARAITTTTFDFWGQGTTLTVSS
136	Alfa- FLT3 mAb - 4G8 (Synimmune) VL	DIVLTQSPATLSVTPGDSVLSCLASQSISSNNLHWYQQKSHESPRLLI KYASQSISSGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVETEDFGVYFCQQSNTWPY TFGGGKLEIK
137	Alpha- FLT3 mAb - EB10 (ImClone/Lilly) VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGLEWM GIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVMELSSLRSEDVAVYYC ARGVGAHDAFDIWGQGTITVTVSS
138	Alfa- FLT3 mAb - EB10 (ImClone/Lilly) VL	DVVMTQSPSLPVTTPGEPASISCRSSQSLLSNNGNNDWYLDWYLDKPGQS PQLLIYLGSNRASGVPRFSGSGSDTDFTLQISRVEADVGVYYCMQG THPAISFGQGTTRLEIK
139	Alfa- FLT3 mAb - NC7 (ImClone/Lilly) VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWM GGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYC ATFALFGFREQAFDIWGQGTITVTVSS
140	Alfa- FLT3 mAb - NC7 (ImClone/Lilly) VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDLATYYCQQSYSTPF TFGPGTKVDIK
141	Alpha- FLT3 mAb - FL23 (Amgen) VH	QVTLKESGPALVKPTETLTLTCTVSGFSFRNARMGVSWIRQPPGKALE WLAHIFSNDEKSYSTSLKSRLTISKDTSKSQVVLTLTNMPDVPDTATYF CARMPEYSSGWSGAFDIWGQGTMTVTVSS
142	Alfa- FLT3 mAb - FL23 (Amgen) VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGYDLGWYQQKPGKAPKRLI YAASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLIISLQPEDFATYYCLQHNSFPW TFGQGTKEIK
143	Alpha- FLT3 mAb - FL39 (Amgen) VH	QVTLKESGPTLVKPTETLTLTCTLSGFSLNARMGVSWIRQPPGKCLE WLAHIFSNDEKSYSTSLKNRLTISKDSKTQVVLTMNVDPVDTATYY CARIVGYGSGWYGFFDYWGQGTTLTVTVSS
144	Alfa- FLT3 mAb - FL39 (Amgen) VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIKNDLGWYQQKPGKAPKRLI YAASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPL TFGCGTKVEIK
145	Alfa- FLT3 mAb - FL61 (Amgen) VH	QVQLVESGGGVVQPGSRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWV AVISYDGSNEFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARGGEITMVRGVIGYYYYGMDVWGQGTITVTVSS
146	Alfa- FLT3 mAb - FL61 (Amgen) VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLI YAASSLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCLQHNSYPL TFGGGKVEIK

REIVINDICACIONES

1. Un sitio de unión al antígeno que se une a FLT3, en donde comprende:
(a) un dominio variable de cadena pesada (VH) que comprende la región determinante de complementariedad 1 (CDR1), la región determinante de complementariedad 2 (CDR2) y la región determinante de complementariedad 3 (CDR3) que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 11, 4 y 55, respectivamente; y
(b) un dominio variable de cadena ligera (VL) que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente.
2. El sitio de unión al antígeno de la reivindicación 1, en donde el CDR3 del VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5.
3. El sitio de unión al antígeno de la reivindicación 1, en donde el CDR3 del VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50.
4. El sitio de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el VH comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % idéntica a la SEQ ID NO:37 y el VL comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % idéntica a la SEQ ID NO:38.
5. El sitio de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53 y el VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42.
6. El sitio de unión al antígeno de la reivindicación 5, en donde el VH y el VL comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 9 y 10; 13 y 10; 17 y 10; 9 y 22; 9 y 26; 9 y 30; 9 y 34; 37 y 38; 41 y 42; 45 y 42; o 49 y 42, respectivamente.
7. Un sitio de unión al antígeno que se une a FLT3, en donde comprende:
(a) un VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 59, 63, y 54, respectivamente; y
(b) un VL que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 86, 66, y 67, respectivamente.
8. El sitio de unión al antígeno de la reivindicación 7, en donde el VH comprende CDR1, CDR2, y CDR3 de SEQ ID NO: 78, 63, 79 respectivamente, y el VL comprende CDR1, CDR2, y CDR3 de SEQ ID NO: 80, 66, 67, respectivamente.
9. El sitio de unión al antígeno de la reivindicación 7, en donde el VH comprende CDR1, CDR2, y CDR3 de SEQ ID NO: 62, 63, 64 respectivamente, y el VL comprende CDR1, CDR2, y CDR3 de SEQ ID NO: 65, 66, 67.
10. El sitio de unión al antígeno de la reivindicación 7, en donde el VH comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % idéntica a la SEQ ID NO:76 y el VL comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % idéntica a la SEQ ID NO:77.
11. El sitio de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, en

donde el VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y el VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:84.

12. El sitio de unión al antígeno de la reivindicación 11, en donde el VH y el VL comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 68 y 69; 72 y 73; o 76 y 77, respectivamente.

13. Un sitio de unión al antígeno que se une a FLT3, en donde comprende:

(a) un VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 87, 88, y 89, respectivamente; y

(b) un VL que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 91, 92, y 93, respectivamente.

14. Un sitio de unión al antígeno que se une a FLT3, en donde comprende:

(a) un VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 97, 99, y 100, respectivamente; y

(b) un VL que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 101, 102, y 103, respectivamente.

15. Un sitio de unión al antígeno que se une a FLT3, en donde comprende:

(a) un VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 87, 98, y 89, respectivamente; y

(b) un VL que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 106, 92, y 93, respectivamente.

16. Un sitio de unión al antígeno que se une a FLT3, en donde comprende:

(a) un VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 109, 110, y 111, respectivamente; y

(b) un VL que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 112, 113, y 114, respectivamente.

17. Un sitio de unión al antígeno que se une a FLT3, en donde comprende:

(a) un VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 117, 118, y 119, respectivamente; y

(b) un VL que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 120, 121, y 122, respectivamente.

18. Un sitio de unión al antígeno que se une a FLT3, en donde comprende:

(a) un VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 87, 98, y 89, respectivamente; y

(b) un VL que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 106, 92, y 93, respectivamente.

19. Un sitio de unión al antígeno que se une a FLT3, en donde comprende:

(a) un VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de

aminoácidos de SEQ ID NOs: 62, 33, y 127, respectivamente; y

(b) un VL que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 128, 129, y 130, respectivamente.

20. Un sitio de unión al antígeno que se une a FLT3, que comprende:

(a) un VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 en donde comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 132, 133, y 134, respectivamente; y

(b) un VL que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 65, 66, y 46, respectivamente.

21. Un sitio de unión al antígeno en donde compite con el sitio de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15 y 18 a 19.

22. El sitio de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el sitio de unión al antígeno une el FLT3 humano con una constante de disociación (K_D) menor o igual que 20 nM tal como se midió mediante resonancia de plasmones superficiales (SPR).

23. El sitio de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, 13, 14, y 18, en donde el sitio de unión al antígeno une el FLT3 humano con una K_D menor o igual que 10 nM tal como se midió mediante SPR.

24. El sitio de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el sitio de unión al antígeno une una variante de FLT3 humano que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25.

25. El sitio de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el sitio de unión al antígeno une una variante de FLT3 humano que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:18.

26. El sitio de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 y 18 a 25, en donde el sitio de unión al antígeno se une a FLT3 cynomolgus.

27. El sitio de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 y 17 a 26, en donde el sitio de unión al antígeno no compite con FLT3L para unirse a FLT3.

28. El sitio de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el sitio de unión al antígeno está presente como un fragmento variables de cadena simple (scFv).

29. El sitio de unión al antígeno de la reivindicación 27, en donde el scFv comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de SEQ ID NOs: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, 52, 70, 71, 74, 75, 81, y 82.

30. Una proteína en donde comprende el sitio de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

31. La proteína de la reivindicación 30, en donde comprende además una región constante de cadena pesada del anticuerpo.

32. La proteína de la reivindicación 31, en donde la región constante de cadena pesada del anticuerpo es una región constante de cadena pesada de IgG humana.
33. La proteína de la reivindicación 32, en donde la región constante de cadena pesada del anticuerpo es una región constante de cadena pesada de IgG1 humana.
34. La proteína de la reivindicación 32 o 33, en donde cada cadena de polipéptidos de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % idéntica a la SEQ ID NO:21.
35. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 32 a 34, en donde al menos una cadena de polipéptidos de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende una o más mutaciones, con relación a la SEQ ID NO:21, en una o más posiciones seleccionadas de Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411, y K439, numeradas de acuerdo con el sistema de numeración de EU.
36. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 32 a 35, en donde al menos una cadena de polipéptidos de la región constante de cadena pesada del anticuerpo Q347E, Q347R, Y349S, Y349K, Y349T, Y349D, Y349E, Y349C, L351K, L351D, L351Y, S354C, E356K, E357Q, E357L, E357W, K360E, K360W, Q362E, S364K, S364E, S364H, S364D, T366V, T366I, T366L, T366M, T366K, T366W, T366S, L368E, L368A, L368D, K370S, N390D, N390E, K392L, K392M, K392V, K392F, K392D, K392E, T394F, D399R, D399K, D399V, S400K, S400R, D401K, F405A, F405T, Y407A, Y407I, Y407V, K409F, K409W, K409D, T411D, T411E, K439D, y K439E, numeradas de acuerdo con el sistema de numeración de EU.
37. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 32 a 36, en donde una cadena de polipéptidos de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende una o más mutaciones, con relación a la SEQ ID NO:21, en una o más posiciones seleccionadas de Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 y K439; y la otra cadena de polipéptidos de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende una o más mutaciones, con relación a la SEQ ID NO:21, en una o más posiciones seleccionadas de Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, D401, F405, Y407, K409, T411, y K439, numeradas de acuerdo con el sistema de numeración de EU.
38. La proteína de la reivindicación 37, en donde una cadena de polipéptidos de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende sustituciones de K360E y K409W con relación a la SEQ ID NO:21; y la otra cadena de polipéptidos de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende sustituciones de Q347R, D399V y F405T con relación a la SEQ ID NO:21, numeradas de acuerdo con el sistema de numeración de EU.

39. La proteína de la reivindicación 37 o 38, en donde una cadena de polipéptidos de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende una sustitución de Y349C con relación a la SEQ ID NO:21; y la otra cadena de polipéptidos de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende una sustitución de S354C con relación a la SEQ ID NO:21, numeradas de acuerdo con el sistema de numeración de EU.
40. Un conjugado anticuerpo-fármaco en donde comprende la proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 30 a 39 y un resto de fármaco.
41. El conjugado anticuerpo-fármaco de la reivindicación 40, en donde el resto de fármaco se selecciona del grupo que consiste en auristatina, calicheamicina N-acetil-γ, maitansinoide, pirrolobenzodiazepina y SN-38.
42. Una inmunocitocina en donde comprende el sitio de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29 y una citocina.
43. La inmunocitocina de la reivindicación 42, en donde la citocina se selecciona del grupo que consiste en IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, IL-15, TNF e IFNα.
44. Un activador de células T biespecífico en donde comprende el sitio de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29 y un sitio de unión al antígeno que se une a CD3.
45. Un receptor de antígenos quiméricos (CAR) en donde comprende:
 - (a) el sitio de unión al antígeno de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29;
 - (b) un dominio transmembrana; y
 - (c) un dominio de señalización intracelular
46. El CAR de la reivindicación 45, en donde el dominio transmembrana se selecciona de las regiones transmembrana de la cadena alfa, beta o zeta del receptor de linfocitos T, CD28, CD3 épsilon, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, FLT3, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD152 y CD154.
47. El CAR de la reivindicación 45 o 46, en donde el dominio de señalización intracelular comprende un dominio de señalización primario que comprende un dominio de señalización funcional de CD3 zeta, FcR gamma común (FCER1G), Fc gamma RIIa, FcR beta (Fc Épsilon R1b), CD3 gamma, CD3 delta, CD3 épsilon, CD79a, CD79b, DAP10 y DAP12.
48. El CAR de cualquiera de las reivindicaciones 45 a 47, en donde el dominio de señalización intracelular comprende además un dominio de señalización coestimulador que comprende un dominio de señalización funcional de un receptor coestimulador.
49. El CAR de la reivindicación 48, en donde el receptor coestimulador se selecciona del grupo que consiste en OX40, CD27, CD28, CD30, CD40, PD-1, CD2, CD7, CD258, NKG2C, B7-H3, un ligando que se une a CD83, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS y 4-1BB (CD137) o cualquier combinación de estos.
50. Un ácido nucleico aislado en donde codifica el CAR de una cualquiera de las

reivindicaciones 45 a 49.

51. Un vector de expresión en donde comprende el ácido nucleico aislado de la reivindicación 50.

52. Una célula efectora inmunitaria en donde comprende el ácido nucleico de la reivindicación 50 o el vector de expresión de la reivindicación 51.

53. Una célula efectora inmunitaria en donde expresa el CAR de una cualquiera de las reivindicaciones 45 a 49.

54. La célula efectora inmunitaria de la reivindicación 52 o 53, en donde la célula efectora inmunitaria es un linfocito T.

55. La célula efectora inmunitaria de la reivindicación 54, en donde el linfocito T es un linfocito T CD8⁺, un linfocito T CD4⁺ o una célula NKT.

56. La célula efectora inmunitaria de la reivindicación 52 o 53, en donde la célula efectora inmunitaria es una célula NK.

57. Una composición farmacéutica en donde comprende la proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 30-39, el conjugado anticuerpo-fármaco de la reivindicación 40 o 41, la inmunocitocina de la reivindicación 42 o 43, el activador de células T biespecífico de la reivindicación 44, o la célula efectora inmunitaria de una cualquiera de las reivindicaciones 52 a 56; y un portador farmacéuticamente aceptable.

58. Un método para tratar el cáncer, el método consiste en administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad efectiva de la proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 30 a 39, el conjugado anticuerpo-fármaco de la reivindicación 40 o 41, la inmunocitocina de la reivindicación 42 o 43, el activador de células T biespecífico de la reivindicación 44, la célula efectora inmunitaria de una cualquiera de las reivindicaciones 52 a 56, o la composición farmacéutica de la reivindicación 57.

59. El método de la reivindicación 58, en donde el cáncer es una neoplasia maligna hematológica.

60. El método de la reivindicación 59, en donde la neoplasia maligna hematológica es leucemia.

61. El método de la reivindicación 59 o 60, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia linfoblástica aguda (LLA), mielodisplasia, leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T y leucemia promielocítica aguda.

62. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 58 a 61, en donde el cáncer expresa el FLT3.

RESUMEN

ANTICUERPOS DIRIGIDOS A FLT3 Y USO DE LOS MISMOS

Se divulgan proteínas con dominios variables de cadena pesada y cadena ligera de anticuerpos que pueden emparejarse para formar un sitio de unión a antígeno dirigido a FLT3 en una célula, composiciones farmacéuticas que comprenden dichas proteínas y métodos terapéuticos que utilizan dichas proteínas y composiciones farmacéuticas, incluso para el tratamiento del cáncer.