

PROTEÍNAS QUE SE UNEN A NKG2D, CD16 Y FLT3

[0001] Esta solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud de Provisional de Estados Unidos No. 62/915.123, presentada el 15 de octubre de 2019, la totalidad de la cual se incorpora aquí como referencia.

LISTADO DE SECUENCIAS

[0001] Esta aplicación incorpora por referencia en su totalidad el Formulario Legible por Computadora (CRF) de una lista de secuencias en formato de texto ASCII. El archivo de texto de lista de secuencias se titula "14247-474-888_SEQ_LISTING", se creó el 5 de octubre de 2020 y tiene un tamaño de 317 572 bytes.

CAMPO DE LA INVENCION

[0002] La invención se refiere a proteínas de unión multiespecíficas que se unen a NKG2D, CD16 y FLT3

ANTECEDENTES

[0003] El cáncer sigue siendo un problema de salud importante a pesar de los importantes esfuerzos de investigación y los avances científicos descritos en la bibliografía para el tratamiento de esta enfermedad. Los cánceres de sangre y médula ósea se diagnostican con frecuencia como tipos de cáncer, que incluyen mielomas múltiples, leucemia y linfomas. 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.

[0004] Las inmunoterapias contra el cáncer son deseables porque son muy específicas y pueden facilitar la destrucción de las células cancerosas utilizando el propio sistema inmunológico del paciente. Las proteínas de fusión, como los acopladores de células T biespecíficas, son inmunoterapias contra el cáncer descritas en la bibliografía que se unen a las células tumorales y las células T para facilitar la destrucción de las células tumorales. En la literatura se han descrito anticuerpos que se unen a ciertos antígenos asociados a tumores y a ciertas células inmunes. Véase, por ejemplo, WO 2016/134371 y WO 2015/095412

[0005] Las células asesinas naturales (NK) son un componente del sistema inmunológico innato y constituyen aproximadamente el 15% de los linfocitos circulantes. Las células NK se infiltran virtualmente en todos los tejidos y originalmente se caracterizaron por su capacidad para destruir células tumorales de manera efectiva sin necesidad de sensibilización previa.

Las células NK activadas matan a las células objetivo por medios similares a las células T citotóxicas, es decir, a través de gránulos citolíticos que contienen perforina y granzimas, así como a través de las vías del receptor de muerte. Las células NK activadas también secretan citocinas inflamatorias como IFN- γ y quimiocinas que promueven el reclutamiento de otros leucocitos al tejido objetivo.

[0006] Las células NK responden a señales a través de una variedad de receptores activadores e inhibidores en su superficie. Por ejemplo, cuando las células NK se encuentran con células propias sanas, su actividad se inhibe mediante la activación de los receptores de tipo inmunoglobulina de células asesinas (KIR). Alternativamente, cuando las células NK encuentran células extrañas o células cancerosas, se activan a través de sus receptores de activación (por ejemplo, NKG2D, NCR, DNAM1). Las células NK también son activadas por la región constante de algunas inmunoglobulinas a través de los receptores CD16 en su superficie. La sensibilidad general de las células NK a la activación depende de la suma de señales estimulantes e inhibitorias. NKG2D es una proteína transmembrana de tipo II que es expresada esencialmente por todas las células asesinas naturales donde NKG2D sirve como receptor de activación. NKG2D también se encuentra en las células T donde actúa como un receptor coestimulador. La capacidad de modular la función de las células NK a través de NKG2D es útil en varios contextos terapéuticos, que incluyen la malignidad.

[0007] La tirosina quinasa 3 relacionada con Fms (FLT3), también denominada FLK2, STK1 o CD135, es un receptor de tirosina quinasa de clase III. FLT3 es una proteína transmembrana que incluye múltiples dominios de tipo inmunoglobulina 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.

RESUMEN

[0008] La invención proporciona proteínas de unión multiespecíficas que se unen al receptor NKG2D y al receptor CD16 en células asesinas naturales, y al antígeno FLT3 asociado a tumores. Dichas proteínas pueden comprometer más de un tipo de receptor activador de NK y pueden bloquear la unión de ligandos naturales a NKG2D. En ciertas modalidades, las proteínas pueden agonizar las células NK en humanos. En algunas

modalidades, las proteínas pueden agonizar las células NK en seres humanos y en otras especies tales como roedores y monos cynomolgus. Formulaciones que contienen cualquiera de las proteínas descritas aquí; células que contienen uno o más ácidos nucleicos que expresan las proteínas, y métodos para potenciar la muerte de células tumorales utilizando las proteínas también se proporcionan.

[0009] Por consiguiente, un aspecto de la invención proporciona una proteína que comprende:

- (a) un primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D;
- (b) un segundo sitio de unión a antígeno que se une a FLT3; y
- (c) un dominio Fc de anticuerpo o una porción del mismo suficiente para unirse a CD16, o un tercer sitio de unión a antígeno que se une a CD16,

en donde el segundo sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 comprende:

(i) 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 Nos: 11, 4 y 55, respectivamente; y un dominio variable de cadena ligera (VL) que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente;

(ii) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs:

59, 63 y 54, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 86, 66 y 67, respectivamente;

(iii) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs:

87, 88 y 89, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 91, 92 y 93, respectivamente;

(iv) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs:

97, 99 y 100, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 101, 102 y 103, respectivamente;

(v) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs:

87, 98 y 89, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 106, 92 y 93, respectivamente;

(vi) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs:

109, 110 y 111, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 112, 113 y 114, respectivamente;

(vii) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs:

117, 118 y 119, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 120, 121 y 122, respectivamente;

(viii) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs:

87, 98 y 89, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 106, 92 y 93, respectivamente;

(ix) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs:

62, 33 y 127, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 128, 129 y 130, respectivamente; o

(x) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs:

132, 133 y 134, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 65, 66 y 46, respectivamente.

[0010] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 11, 4 y 55, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 11, 4 y 5, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 11, 4 y 50, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, la VH comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% idéntica a la SEQ ID NO: 37, y la VL comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% idéntica a la SEQ ID NO: 38. En ciertas modalidades, la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42. En ciertas

modalidades, la VH y la VL comprenden las secuencias de aminoácidos de las 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. IEn ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está presente como un fragmento variable de cadena sencilla (scFv), y en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID NOs: 3, 12, 15, 16, 19, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 32, 35, 36, 39, 40, 43, 44, 47, 48, 51, y 52.

[0011] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión a antígeno que se une FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 59, 63 y 54, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 86, 66 y 67, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión a antígeno que une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 78, 63, 79, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 80, 66, 67, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión a antígeno que se une FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 62, 63, 64, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 65, 66, 67, respectivamente. En ciertas modalidades, la VH comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90% idéntica a la SEQ ID NO: 76, y la VL comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90% idéntica a la SEQ ID NO: 77. En ciertas modalidades, la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29 y la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 84. En ciertas modalidades, la VH y la VL comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 68 y 69; 72 y 73; o 76 y 77, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, y en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID NOs: 70, 71, 74, 75, 81 y 82

[0012] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 87, 88 y 89, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 91, 92 y 93, respectivamente.

[0013] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de

aminoácidos de las SEQ ID NOs: 97, 99 y 100, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 101, 102 y 103, respectivamente.

[0014] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 87, 98 y 89, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 106, 92 y 93, respectivamente.

[0015] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 109, 110 y 111, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 112, 113 y 114, respectivamente.

[0016] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 117, 118 y 119, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 120, 121 y 122, respectivamente.

[0017] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 87, 98 y 89, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 106, 92 y 93, respectivamente.

[0018] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 62, 33 y 127, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 128, 129 y 130, respectivamente.

[0019] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 132, 133 y 134, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 65, 66 y 46, respectivamente.

[0020] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión a antígeno se une a FLT3 humano con una constante de disociación (K_D) menor o igual a 20 nM medida por resonancia de plasmón superficial (SPR). En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión a antígeno se une a FLT3 humano con una K_D menor o igual a 10 nM medida por SPR. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno se une a cynomolgus FLT3. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno no compite con FLT3L por la unión a FLT3.

[0021] En ciertas modalidades, la proteína comprende un dominio Fc de anticuerpo o una porción del mismo suficiente para unirse a CD16.

[0022] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D es un fragmento Fab, y el segundo sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 es un scFv. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D es un scFv, y el segundo sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 es un fragmento Fab.

[0023] En ciertas modalidades, la proteína comprende además un sitio de unión al antígeno adicional que se une a FLT3. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D es un scFv, y el segundo y los sitios de unión al antígeno adicionales que se unen a FLT3 son cada uno un fragmento Fab. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D es un scFv, y el segundo y los sitios de unión al antígeno adicionales que se unen a FLT3 son cada uno un scFv.

[0024] En ciertas modalidades, el scFv que se une a FLT3 y/o el scFv que se une a NKG2D comprenden un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera. En ciertas modalidades, el scFv se une a un dominio constante de anticuerpo o una porción del mismo suficiente para unirse a CD16, a través de una bisagra que comprende Ala-Ser o Gly-Ser. En ciertas modalidades, la bisagra comprende además la secuencia de aminoácidos Thr-Lys-Gly. En ciertas modalidades, el dominio variable de la cadena pesada del scFv forma un puente disulfuro con el dominio variable de la cadena ligera del scFv. En ciertas modalidades, el puente disulfuro se forma entre C44 del dominio variable de cadena pesada y C100 del dominio variable de cadena ligera, numerados según el esquema de numeración de Kabat. En ciertas modalidades, el dominio variable de la cadena pesada del scFv está unido al dominio variable de la cadena ligera del scFv mediante un enlazador flexible. En ciertas modalidades, el enlazador flexible comprende $(G_4S)_4$. En ciertas modalidades, dentro del scFv, el dominio variable de la cadena pesada se coloca en el C-término del dominio variable de la cadena ligera. En ciertas modalidades, dentro del scFv, el

dominio variable de la cadena pesada se coloca en el N-término del dominio variable de la cadena ligera.

[0025] En ciertas modalidades, el Fab no se coloca entre un sitio de unión a antígeno y el Fc o la porción del mismo.

[0026] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 240 o 241, 242 y 270 o 271, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente.

[0027] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende::

(i) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 240 o 241, 242 y 255 o 256, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente; o

(ii) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs:

240 o 241, 242 y 243 o 244, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente.

[0028] En ciertas modalidades, la VH del primer sitio de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% idéntica a la SEQ ID NO: 254, y la VL del primer sitio de unión al antígeno comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% idéntica a SEQ ID NO: 239. En ciertas modalidades, la VH del primer sitio de unión al antígeno comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 254 y la VL del primer sitio de unión al antígeno comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 239.

[0029] En ciertas modalidades, el dominio Fc del anticuerpo es un dominio Fc del anticuerpo IgG1 humano. En ciertas modalidades, el dominio Fc del anticuerpo o la porción del mismo comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% idéntica a la SEQ ID NO: 136.

[0030] En ciertas modalidades, aproximadamente una cadena polipeptídica del dominio Fc del anticuerpo comprende una o más mutaciones, en relación con la SEQ ID NO: 136, en una o más posiciones seleccionadas entre 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 de acuerdo con el sistema de numeración de la UE. En ciertas modalidades, aproximadamente una cadena polipeptídica del dominio Fc del anticuerpo comprende una o más mutaciones, en relación con la SEQ ID NO: 136, 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 de acuerdo con el sistema de numeración de la UE. En ciertas 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: 136, 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, en relación con SEQ ID NO: 136, 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 de acuerdo con el sistema de numeración de la UE. En ciertas modalidades, una cadena polipeptídica de la región constante de la cadena pesada del anticuerpo comprende sustituciones de K360E y K409W con respecto a SEQ ID NO: 136; 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: 136, numeradas de acuerdo con el sistema de numeración de la UE. En ciertas 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: 136; 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: 136, numerada de acuerdo con el sistema de numeración de la UE.

[0031] En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una proteína descrita aquí y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[0032] En otro aspecto, la presente invención proporciona una célula que comprende uno o más ácidos nucleicos que codifican una proteína descrita aquí.

[0033] En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para potenciar la muerte de células tumorales, el método que comprende exponer la célula tumoral y una célula asesina natural a una cantidad efectiva de la proteína o composición farmacéutica descrita aquí.

[0034] En otro aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar el cáncer, el método que comprende administrar una cantidad efectiva de la proteína o composición farmacéutica descrita aquí a un paciente que lo necesite.

[0035] En ciertas modalidades, el cáncer es una neoplasia maligna hematológica. En ciertas modalidades, la neoplasia maligna hematológica es leucemia. En ciertas modalidades, se seleccionan del grupo que consiste en leucemia mieloide aguda (AML), leucemia linfoblástica aguda (ALL), mielodisplasia, leucemia linfoblástica T aguda y leucemia promielocítica aguda. En ciertas modalidades, el cáncer expresa FLT3.

[0036] Varios aspectos y modalidades de la invención se describen con más detalle a continuación.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0037] **La Fig. 1** es una representación de un anticuerpo heterodimérico multiespecífico, por ejemplo, una proteína de unión trispecífica (TriNKET). Cada brazo puede representar el dominio de unión a NKG2D o el dominio de unión correspondiente a FLT3. En algunas modalidades, el dominio de unión a NKG2D y los dominios de unión a FLT3 pueden compartir una cadena ligera común.

[0038] **Las FIG. 2A-2E** ilustran cinco formatos ejemplares de una proteína de unión multiespecífica, por ejemplo, una proteína de unión trispecífica (TriNKET). Como se muestra en la **FIG. 2A**, el dominio de unión a NKG2D o el dominio de unión a FLT3 pueden tomar el formato scFv (brazo izquierdo). Un anticuerpo que contiene un scFv dirigido a NKG2D, un fragmento Fab dirigido a FLT3 y una región constante de anticuerpo heterodimerizado se denomina aquí F3-TriNKET. Un anticuerpo que contiene un scFv dirigido a FLT3, un fragmento Fab dirigido a NKG2D y una región/dominio constante de anticuerpo heterodimerizado que se une a CD16 se denomina aquí F3'-TriNKET (**FIG. 2E**). Como se muestra en la **FIG. 2B**, tanto el dominio de unión a NKG2D como el dominio de unión a FLT3 pueden tomar el formato scFv. **Las FIG. 2C a 2D** son ilustraciones de un anticuerpo con tres sitios de unión a antígeno, incluidos dos sitios de unión a antígeno que se

unen a FLT3, y el sitio de unión a NKG2D fusionado a la región constante del anticuerpo heterodimerizado. Estos formatos de anticuerpos se denominan aquí F4-TriNKET. **La Fig. 2C** ilustra que los dos sitios de unión a FLT3 están en formato de fragmento Fab y el sitio de unión a NKG2D en formato scFv. **La Fig. 2D** ilustra que los sitios de unión de FLT3 están en formato scFv y el sitio de unión de NKG2D está en formato scFv. **La Fig. 2E** representa un anticuerpo triespecífico (TriNKET) que contiene un scFv dirigido a tumores, un fragmento Fab dirigido a NKG2D y una región/dominio constante de anticuerpo heterodimerizado ("dominio CD") que se une a CD16. El formato del anticuerpo se denomina aquí F3'-TriNKET. En determinadas proteínas de unión multiespecíficas ejemplares, las mutaciones de heterodimerización en la región constante del anticuerpo incluyen K360E y K409W en un dominio constante; y Q347R, D399V y F405T en el dominio constante opuesto (mostrado como una forma triangular de cerradura y llave en los dominios CD). La barra en negrita entre los dominios variables de cadena pesada y ligera de los fragmentos Fab representa un enlace disulfuro.

[0039] **La Fig. 3** es una representación de un TriNKET en la forma Triomab, que es un anticuerpo biespecífico trifuncional que mantiene una forma similar a la de IgG. Esta quimera consta de dos medios anticuerpos, cada uno con una cadena ligera y una pesada, que se originan a partir de dos anticuerpos precursores. La forma de triomab puede ser un constructo heterodimérico que contiene 1/2 de anticuerpo de rata y 1/2 de anticuerpo de ratón.

[0040] **La Fig. 4** es una representación de un TriNKET en forma de cadena ligera común KiH, que incluye la tecnología de perillas en agujeros (KIH). KiH es un heterodímero que contiene 2 fragmentos Fab que se unen al objetivo 1 y 2, y un Fc estabilizado por mutaciones de heterodimerización. TriNKET en el formato KiH puede ser un constructo heterodimérico con 2 fragmentos Fab que se unen al objetivo 1 y el objetivo 2, que contiene dos cadenas pesadas diferentes y una cadena ligera común que se empareja con ambas cadenas pesadas.

[0041] **La Fig. 5** es una representación de un TriNKET en forma de inmunoglobulina de dominio variable dual (DVD-IgTM), que combina los dominios de unión al objetivo de dos anticuerpos monoclonales a través de enlazadores naturales flexibles y produce una molécula tetravalente similar a IgG. DVD-IgTM es un constructo homodimérico en donde el antígeno de dirección de dominio variable 2 se fusiona con el N-término de un dominio variable de antígeno de dirección de fragmento Fab 1. La forma de DVD-IgTM contiene Fc normal.

[0042] **La Fig. 6** es una representación de un TriNKET en la forma de interfaz de fragmentos Fab ortogonal (Ortho-Fab), que es un constructo heterodimérico que contiene 2 fragmentos Fab que se unen al objetivo 1 y el objetivo 2 fusionados con Fc. El

emparejamiento de cadena ligera (LC)-cadena pesada (HC) está asegurado por una interfaz ortogonal. La heterodimerización está asegurada por mutaciones en Fc.

[0043] La Fig. 7 es una representación de un TriNKET en formato Ig 2 en 1.

[0044] La Fig. 8 es una representación de un TriNKET en la forma ES, que es un constructo heterodimérico que contiene dos fragmentos Fab diferentes que se unen al objetivo 1 y el objetivo 2 fusionados con la Fc. La heterodimerización está asegurada por mutaciones de dirección electrostática en el Fc.

[0045] La Fig. 9 es una representación de un TriNKET en la forma de intercambio de brazos Fab: anticuerpos que intercambian brazos de fragmentos Fab intercambiando una cadena pesada y una cadena ligera unida (media molécula) con un par de cadena ligera pesada de otra molécula, lo que da como resultado anticuerpos biespecíficos. La forma de intercambio de brazos Fab (cFae) es un heterodímero que contiene 2 fragmentos Fab que se unen al objetivo 1 y 2, y un Fc estabilizado por mutaciones de heterodimerización.

[0046] La Fig. 10 es una representación de un TriNKET en la forma SEED Body, que es un heterodímero que contiene 2 fragmentos Fab que se unen al objetivo 1 y 2, y un Fc estabilizado por mutaciones de heterodimerización.

[0047] La Fig. 11 es una representación de un TriNKET en la forma LuZ-Y, en la que se usa una cremallera de leucina para inducir la heterodimerización de dos HC diferentes. La forma LuZ-Y es un heterodímero que contiene dos scFabs diferentes que se unen al objetivo 1 y 2, fusionados con Fc. La heterodimerización se asegura mediante motivos de cremallera de leucina fusionados al C-término de Fc.

[0048] La Fig. 12 es una representación de un TriNKET en la forma Cov-X-Body.

[0049] Las FIGs 13A-13B son representaciones de TriNKET en las formas $\kappa\lambda$ -Body, que son construcciones heterodiméricas con dos fragmentos Fab diferentes fusionados a Fc estabilizados por mutaciones de heterodimerización: un fragmento Fab que se dirige al antígeno 1 contiene kappa LC, y el segundo fragmento Fab que se dirige al antígeno 2 contiene lambda LC. La Fig. 13A es una representación ejemplar de una forma de un $\kappa\lambda$ -Body; Figura 13B es una representación ejemplar de otro $\kappa\lambda$ -Body.

[0050] La Fig. 14 es un constructo heterodimérico de Oasc-Fab que incluye la unión del fragmento Fab al objetivo 1 y la unión de scFab al objetivo 2, ambos fusionados al dominio Fc. La heterodimerización está asegurada por mutaciones en el dominio Fc.

[0051] La Fig. 15 es un DuetMab, que es un constructo heterodimérico que contiene dos fragmentos Fab diferentes que se unen a los antígenos 1 y 2, y un Fc que se estabiliza

mediante mutaciones de heterodimerización. Los fragmentos Fab 1 y 2 contienen puentes S-S diferenciales que aseguran un correcto emparejamiento de cadenas ligeras y pesadas.

[0052] La Fig. 16 es un CrossmAb, que es un constructo heterodimérico con dos fragmentos Fab diferentes que se unen a los objetivos 1 y 2, y un Fc estabilizado por mutaciones de heterodimerización. Los dominios CL y CH1, y los dominios VH y VL se cambian, por ejemplo, CH1 se fusiona en línea con VL, mientras que CL se fusiona en línea con VH

[0053] La Fig. 17 es un Fit-Ig, que es un constructo homodimérico en el que el fragmento Fab que se une al antígeno 2 se fusiona con el N-término de HC del fragmento Fab que se une al antígeno 1. El constructo contiene Fc de tipo salvaje.

[0054] La Fig. 18 es un conjunto de sensogramas que muestran perfiles SPR de anticuerpos recogidos de los sobrenadantes de hibridomas murinos que se unen a hFLT3.

[0055] La Fig. 19 es un conjunto de sensogramas que muestran perfiles SPR de anticuerpos recogidos de los subclones de mAb murinos que se unen a hFLT3.

[0056] La Fig. 20 es un gráfico de barras que representa la reducción de la capacidad de los anticuerpos candidatos para unirse a células cancerosas EOL-1 que expresan FLT3 saturando concentraciones de ligando FLT3 soluble.

[0057] Las FIGs 21A-21C son gráficos de líneas que muestran la unión de TriNKET F3'-1158 que se dirige a FLT3 y su anticuerpo monoclonal precursor a las líneas celulares que expresan FLT3 RMA-hFLT3 (Figura 21A), RMA-cFLT3 (FIG. 21B) y REH (FIG. 21C).

[0058] Las FIGs 22A-22B son gráficos de líneas que muestran la unión de TriNKET F3'-1158 dirigido a FLT3 y su anticuerpo monoclonal precursor a células MOLM-13, que expresaron FLT3 con mutación T227M (FIG. 22A), y células MV4-11, que expresaron FLT2 con la mutación ITD.

[0059] Las FIGs 23A-23B son gráficos de líneas que muestran la internalización de TriNKET F3'-1158 dirigido a FLT3 y su anticuerpo monoclonal precursor en las líneas celulares REH que expresan FLT3 (FIG. 23A) y EOL-1 (FIG. 23B).

[0060] Las FIGs 24A-24D son gráficos de barras que muestran la lisis mediada por células NK de las líneas de células cancerosas que expresan FLT3 EOL-1 (FIG. 24A), REH (FIG. 24B), RS4-11 (FIG. 24C), y MV4-11 (FIG. 24D) en presencia de TriNKET F3'-1158 y su anticuerpo monoclonal precursor.

[0061] La Fig. 25 es un gráfico de líneas que representa la lisis mediada por células NK de la línea de células cancerosas REH que expresa FLT3 en presencia de TriNKET F3'-1158,

una variante muerta NKG2D del mismo ("F3'-1158 muerto-2D"), variante silenciosa Fc del mismo ("F3'-1158si"), o su anticuerpo monoclonal precursor mAb 1158.

[0062] La **Fig. 26** es un gráfico de líneas que muestra la lisis mediada por células T CD8 de la línea celular de leucemia linfoblástica aguda que expresa FLT3 RS4-11 en presencia de TriNKET F3'-1158 y su anticuerpo monoclonal precursor.

[0063] La **Fig. 27** es un conjunto de histogramas que muestran la unión de TriNKET F3'-1158 y su anticuerpo monoclonal precursor a las células sanguíneas.

[0064] Las **FIGs 28A-28B** son gráficos de barras que muestran la fosforilación de FLT3 por TriNKET F3'-1158 y su anticuerpo monoclonal precursor en ausencia (**FIG. 28A**) o presencia (**FIG. 28B**) del ligando FLT3. La muestra de ligando FLT3 en la **FIG. 7A** sirve como control positivo.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0065] La invención proporciona proteínas de unión multiespecíficas que se unen al receptor NKG2D y al receptor CD16 en células asesinas naturales y al antígeno FLT3 asociado a tumores. En algunas modalidades, las proteínas multiespecíficas incluyen además un sitio de unión al antígeno adicional que se une a FLT3. La invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden dichas proteínas de unión multiespecíficas y métodos terapéuticos que utilizan dichas proteínas multiespecíficas y composiciones farmacéuticas, con fines tales como el tratamiento de enfermedades autoinmunes y cáncer. Varios aspectos de la invención se exponen a continuación en secciones; sin embargo, los aspectos de la invención descritos en una sección en particular no deben limitarse a ninguna sección en particular.

[0066] Para facilitar la comprensión de la presente invención, a continuación se definen varios términos y frases.

[0067] Los términos "un" y "una" como se usan aquí significan "uno o más" e incluyen el plural a menos que el contexto sea inapropiado.

[0068] Como se usa aquí, 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 "CDRs". En ciertos animales, tales como camellos y 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 tal como un scFv, usando un enlazador peptídico para conectar el dominio variable de la cadena pesada al dominio variable de cadena ligera en un solo polipéptido.

[0069] El término "antígeno asociado a tumor" como se usa aquí significa cualquier antígeno que incluye, pero no se limita a, una proteína, glicoproteína, gangliósido, carbohidrato, lípido que está asociado con el cáncer. Dicho antígeno puede expresarse en células malignas o en el microambiente del tumor, tal como en los vasos sanguíneos asociados al tumor, la matriz extracelular, el estroma mesenquimatoso o los infiltrados inmunitarios.

[0070] Como se usa aquí, los términos "sujeto" y "paciente" se refieren a un organismo que se va a tratar mediante los métodos y composiciones descritos aquí. Dichos organismos incluyen preferiblemente, pero no se limitan a, mamíferos (por ejemplo, murinos, simios, equinos, bovinos, porcinos, caninos, felinos y similares), y más preferiblemente incluyen humanos.

[0071] Como se usa aquí, el término "cantidad efectiva" se refiere a la cantidad de un compuesto (por ejemplo, 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 aquí, el término "tratar" incluye cualquier efecto, por ejemplo, disminuir, reducir, modular, mejorar o eliminar, que resulte en la mejora de la afección, enfermedad, trastorno y similares, o aliviar un síntoma del mismo.

[0072] Como se usa aquí, el término "composición farmacéutica" se refiere a la combinación de un agente activo con un portador, inerte o activo, haciendo que la composición sea especialmente adecuada para uso diagnóstico o terapéutico *in vivo* o *ex vivo*.

[0073] Como se usa aquí, el término "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquiera de los vehículos farmacéuticos estándar, tal como una solución salina amortiguada con fosfato, agua, emulsiones (por ejemplo, tal 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 portadores, estabilizadores y adyuvantes, véase, por ejemplo, Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15ª Ed., Mack Publ. Co., Easton, PA [1975].

[0074] Como se usa aquí, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquier sal farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, 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. Ácidos ejemplares incluyen, pero no se limitan a, ácido 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, 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 invención y sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables.

[0075] Las bases ejemplares incluyen, pero no se limitan a, hidróxidos de metales alcalinos (por ejemplo, sodio), hidróxidos de metales alcalinotérreos (por ejemplo, magnesio), amoníaco y compuestos de la fórmula NW_4^+ , en la que W es alquilo C_{1-4} , y similares.

[0076] Las sales ejemplares incluyen, pero no se limitan a: acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, alcanforato, canforsulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, flucoheptanofato, heptanoato, hexanoato, hidrocloreuro, hidrobromuro, hidroyoduro, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, oxalato, palmoato, pectinato, persulfato, fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, undecanoato y similares. Otros ejemplos

de sales incluyen aniones de los compuestos de la presente invención combinados con un catión adecuado como Na^+ , NH_4^+ y NW_4^+ (en donde W es un grupo alquilo C_{1-4}) y similares.

[0077] 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.

[0078] Como se usa aquí, "FLT3" (también conocido como FLK2, STK1 o CD135) se refiere a la proteína del número de acceso de Uniprot P36888 e isoformas relacionadas.

[0079] Como se usa aquí, "FLT3L" (también conocido como ligando FLT3) se refiere a la proteína del número de acceso de Uniprot P49771 e isoformas relacionadas.

[0080] 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, 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.

[0081] 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 se toma en cuenta la definición anterior de la variable.

1. PROTEINAS

[0082] La invención proporciona proteínas de unión multiespecíficas que se unen al receptor NKG2D y al receptor CD16 en células asesinas naturales, y al antígeno FLT3 asociado a tumores. Las proteínas de unión multiespecíficas son útiles en las composiciones farmacéuticas y métodos terapéuticos descritos aquí. La unión de las proteínas de unión multiespecíficas al receptor NKG2D y al receptor CD16 en una célula asesina natural aumenta la actividad de la célula asesina natural hacia la destrucción de las células tumorales que expresan FLT3. La unión de las proteínas de unión multiespecíficas a las células tumorales que expresan FLT3 acerca estas células a la célula asesina natural, lo que facilita la destrucción directa e indirecta de las células tumorales por la célula asesina natural. Las proteínas de unión multiespecíficas que se unen a NKG2D, CD16 y otro objetivo se describen en las publicaciones de solicitud internacional números WO2018148445 y

WO2019157366, que no se incorporan aquí como referencia. A continuación se proporciona una descripción adicional de algunos ejemplos de proteínas de unión multiespecíficas.

[0083] El primer componente de la proteína de unión multiespecífica es un sitio de unión al antígeno que se une a las células que expresan el receptor NKG2D, que pueden incluir, pero no se limitan a, células NK, células T $\gamma\delta$ y células T CD8⁺ $\alpha\beta$. Tras la unión de NKG2D, las proteínas de unión multiespecíficas pueden bloquear ligandos naturales, como ULBP6 y MICA, para que no se unan a NKG2D y activen las células NK.

[0084] El segundo componente de las proteínas de unión multiespecíficas es un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3. Las células que expresan FLT3 pueden encontrarse, por ejemplo, en la leucemia mieloide aguda (AML) y la leucemia linfoblástica aguda (ALL). Las células que expresan FLT3 se pueden encontrar en asociación con otros cánceres y tipos de tumores, por ejemplo, neoplasias malignas hematológicas, leucemia, leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia linfoblástica aguda (ALL), mielodisplasia, leucemia linfoblástica T aguda y leucemia promielocítica aguda.

[0085] El tercer componente de las proteínas de unión multiespecíficas es un dominio Fc de anticuerpo o una parte del mismo o un sitio de unión a antígeno que se une a células que expresan CD16, un receptor Fc en la superficie de los leucocitos, incluidas las células asesinas naturales, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, mastocitos y células dendríticas foliculares.

[0086] Un sitio de unión a antígeno adicional de las proteínas de unión multiespecíficas puede unirse a FLT3. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D es un scFv, y el segundo y los sitios de unión al antígeno adicionales se unen a FLT3, que son cada uno un fragmento Fab. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D es un scFv, y el segundo y los sitios de unión al antígeno adicionales se unen a FLT3, que son cada uno de ellos un scFv.

[0087] Los sitios de unión al antígeno pueden incorporar cada uno un dominio variable de cadena pesada de anticuerpo y un dominio variable de cadena ligera de anticuerpo (por ejemplo, dispuestos como en un anticuerpo o fusionados a partir de un scFv), o uno o más de los sitios de unión a antígeno pueden ser un anticuerpo de dominio único, tal como un anticuerpo VHH como un anticuerpo de camélido o un anticuerpo V_{NAR} como los que se encuentran en los peces cartilaginosos.

[0088] En algunas modalidades, el segundo sitio de unión a antígeno incorpora un dominio variable de cadena ligera que tiene una secuencia de aminoácidos idéntica a la

secuencia de aminoácidos del dominio variable de cadena ligera presente en el primer sitio de unión a antígeno.

[0089] Las proteínas de unión multiespecíficas descritas aquí pueden adoptar varios formatos. Por ejemplo, un formato es un anticuerpo heterodimérico multiespecífico que incluye una primera cadena pesada de inmunoglobulina, una primera cadena ligera de inmunoglobulina, una segunda cadena pesada de inmunoglobulina y una segunda cadena ligera de inmunoglobulina (**FIG. 1**). La primera cadena pesada de inmunoglobulina incluye un primer dominio Fc (bisagra-CH2-CH3), un primer dominio variable de cadena pesada y opcionalmente un primer dominio de cadena pesada CH1. La primera cadena ligera de inmunoglobulina incluye un primer dominio variable de cadena ligera y opcionalmente un primer dominio constante de cadena ligera. La primera cadena ligera de inmunoglobulina, junto con la primera cadena pesada de inmunoglobulina, forma un sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D. La segunda cadena pesada de inmunoglobulina comprende un segundo dominio Fc (bisagra-CH2-CH3), un segundo dominio variable de cadena pesada y, opcionalmente, un segundo dominio de cadena pesada CH1. La segunda cadena ligera de inmunoglobulina incluye un segundo dominio variable de cadena ligera y opcionalmente un segundo dominio constante de cadena ligera. La segunda cadena ligera de inmunoglobulina, junto con la segunda cadena pesada de inmunoglobulina, forma un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3. El primer dominio Fc y el segundo dominio Fc juntos pueden unirse a CD16 (**FIG. 1**). En algunas modalidades, la primera cadena ligera de inmunoglobulina es idéntica a la segunda cadena ligera de inmunoglobulina.

[0090] Otro formato de ejemplo implica un anticuerpo heterodimérico multiespecífico que incluye una primera cadena pesada de inmunoglobulina, una segunda cadena pesada de inmunoglobulina y una cadena ligera de inmunoglobulina (**Figura 2A**). La primera cadena pesada de inmunoglobulina incluye un primer dominio Fc (bisagra-CH2-CH3) fusionado mediante un enlazador o una bisagra de anticuerpo a un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) compuesto por un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera que se emparejan y se unen a NKG2D o se unen a FLT3. La segunda cadena pesada de inmunoglobulina incluye un segundo dominio Fc (bisagra-CH2-CH3), un segundo dominio variable de cadena pesada y un dominio de cadena pesada CH1. La cadena ligera de inmunoglobulina incluye un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera. La segunda cadena pesada de inmunoglobulina se empareja con la cadena ligera de inmunoglobulina y se une a NKG2D o se une a FLT3. El primer dominio Fc y el segundo dominio Fc juntos pueden unirse a CD16 (**Figura 2A**).

[0091] Otro formato ejemplar implica un anticuerpo heterodimérico multiespecífico que incluye una primera cadena pesada de inmunoglobulina y una segunda cadena pesada de inmunoglobulina (FIG. 2B). La primera cadena pesada de inmunoglobulina incluye un primer dominio Fc (bisagra-CH2-CH3) fusionado mediante un enlazador o una bisagra de anticuerpo a un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) compuesto por un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera que se emparejan y se unen a NKG2D o se unen a FLT3. La segunda cadena pesada de inmunoglobulina incluye un segundo dominio Fc (bisagra-CH2-CH3) fusionado mediante un enlazador o una bisagra de anticuerpo a un fragmento variable de cadena sencilla (scFv) compuesto por un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera que se emparejan y se unen a NKG2D o se unen a FLT3. El primer dominio Fc y el segundo dominio Fc juntos pueden unirse a CD16 (Figura 2B).

[0092] En algunas modalidades, el fragmento variable de cadena sencilla (scFv) descrito anteriormente se une al dominio constante del anticuerpo mediante una secuencia de bisagra. En algunas modalidades, la bisagra comprende los aminoácidos Ala-Ser o Gly-Ser. En algunas modalidades, la bisagra que conecta un scFv que se une a NKG2D y el dominio constante de la cadena pesada del anticuerpo comprende los aminoácidos Ala-Ser. En algunas modalidades, la bisagra que conecta un scFv que se une a FLT3 y el dominio constante de la cadena pesada del anticuerpo comprende los aminoácidos Gly-Ser. En algunas otras modalidades, la bisagra comprende los aminoácidos Ala-Ser y Thr-Lys-Gly. La secuencia de bisagra puede proporcionar flexibilidad de unión al antígeno objetivo y equilibrio entre flexibilidad y geometría óptima.

[0093] En algunas modalidades, el fragmento variable de cadena sencilla (scFv) descrito anteriormente incluye un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera. En algunas modalidades, el dominio variable de la cadena pesada forma un puente disulfuro con el dominio variable de la cadena ligera para mejorar la estabilidad del scFv. Por ejemplo, se puede formar un puente disulfuro entre el residuo C44 del dominio variable de la cadena pesada y el residuo C100 del dominio variable de la cadena ligera, las posiciones de aminoácidos numeradas bajo Kabat. En algunas modalidades, el dominio variable de la cadena pesada se une al dominio variable de la cadena ligera mediante un enlazador flexible. Se puede utilizar cualquier enlazador adecuado, por ejemplo, el enlazador (G₄S)₄. En algunas modalidades del scFv, el dominio variable de la cadena pesada se coloca en el extremo N del dominio variable de la cadena ligera. En algunas modalidades del scFv, el dominio variable de la cadena pesada se coloca en el extremo C del dominio variable de la cadena ligera.

[0094] Las proteínas de unión multiespecíficas descritas aquí pueden incluir además uno o más sitios de unión a antígenos adicionales. El(los) sitio(s) de unión al antígeno adicional(es) pueden fusionarse al N-término del dominio CH2 de la región constante o al C-término del dominio CH3 de la región constante, opcionalmente mediante una secuencia enlazadora. En ciertas modalidades, el sitio o sitios de unión a antígeno adicionales toman la forma de una región variable de cadena sencilla (scFv) que está opcionalmente estabilizada con disulfuro, dando como resultado una proteína de unión multiespecífica tetravalente o trivalente. Por ejemplo, una proteína de unión multiespecífica incluye un primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D, un segundo sitio de unión a antígeno que se une a FLT3, un sitio de unión a antígeno adicional que se une a FLT3 y una región constante de anticuerpo o una porción del mismo suficiente para unirse a CD16 o un cuarto sitio de unión a antígeno que se une a CD16. Cualquiera de estos sitios de unión a antígeno puede tomar la forma de un fragmento Fab o un scFv, tal como el scFv descrito anteriormente.

[0095] En algunas modalidades, el sitio de unión al antígeno adicional se une a un epítipo diferente de FLT3 del segundo sitio de unión al antígeno. En algunas modalidades, el sitio de unión al antígeno adicional se une al mismo epítipo que el segundo sitio de unión al antígeno. En algunas modalidades, el sitio de unión al antígeno adicional comprende las mismas secuencias de CDR de cadena pesada y cadena ligera que el segundo sitio de unión al antígeno. En algunas modalidades, el sitio de unión al antígeno adicional comprende las mismas secuencias de dominio variable de cadena pesada y cadena ligera que el segundo sitio de unión al antígeno. En algunas modalidades, el sitio de unión al antígeno adicional tiene la misma secuencia de aminoácidos que el segundo sitio de unión al antígeno. Los formatos ejemplares se muestran en las FIGs 2C y 2D. Por consiguiente, las proteínas de unión multiespecíficas pueden proporcionar un acoplamiento bivalente de FLT3. El acoplamiento bivalente de FLT3 por las proteínas multiespecíficas puede estabilizar FLT3 en la superficie de la célula tumoral y mejorar la citotoxicidad de las células NK hacia las células tumorales. El acoplamiento bivalente de FLT3 por las proteínas multiespecíficas puede conferir una unión más fuerte de las proteínas multiespecíficas a las células tumorales, facilitando así una respuesta citotóxica más fuerte de las células NK hacia las células tumorales, especialmente hacia las células tumorales que expresan un nivel bajo de FLT3.

[0096] Las proteínas de unión multiespecíficas pueden adoptar formatos adicionales. En algunas modalidades, la proteína de unión multiespecífica está en forma de Triomab, que es un anticuerpo biespecífico trifuncional que mantiene una forma similar a IgG. Esta quimera

consta de dos medios anticuerpos, cada uno con una cadena ligera y una pesada, que se originan a partir de dos anticuerpos precursores.

[0097] En algunas modalidades, la proteína de unión multiespecífica es la forma KiH, que incluye/involucre la tecnología de “botón en ojal” (knobs-in-holes - KiH). El KiH implica la ingeniería de dominios CH3 para crear un "botón" o un "ojal" en cada cadena pesada para promover la heterodimerización. El concepto detrás de la tecnología Fc "Botones en ojales (KiH)" era introducir un "botón" en un dominio CH3 (CH3A) mediante la sustitución de un residuo pequeño por uno voluminoso (por ejemplo, T366W_{CH3A} en la numeración de la UE). Para acomodar el "botón", se creó una superficie complementaria de "ojal" en el otro dominio CH3 (CH3B) reemplazando los residuos vecinos más cercanos al botón con otros más pequeños (por ejemplo, T366S/L368A/Y407V_{CH3B}). La mutación de "ojal" se optimizó mediante el cribado de la biblioteca de fagos guiada por estructuras (Atwell S, Ridgway JB, Wells JA, Carter P., Heterodímeros estables de la remodelación de la interfaz de dominio de un homodímero usando una biblioteca de presentación de fagos, *J. Mol. Biol.* (1997) 270 (1): 26–35). Estructuras cristalinas de rayos X de las variantes Fc de KiH (Elliott JM, Ultsch M, Lee J, Tong R, Takeda K, Spiess C, et al., La conformación antiparalela de los homodímeros de semi-anticuerpos aglicosilados de botones y ojales está mediada por una interacción hidrofóbica CH2-CH3. *J. Mol. Biol.* (2014) 426 (9): 1947–57; Mimoto F, Kadono S, Katada H, Igawa T, Kamikawa T, Hattori K. Estructura cristalina de una nueva variante de Fc diseñada asimétricamente con afinidad mejorada por FcγRs. *Mol. Immunol.* (2014) 58 (1):132-8) demostraron que la heterodimerización es termodinámicamente favorecida por interacciones hidrofóbicas impulsadas por la complementariedad estérica en la interfaz del núcleo entre dominios CH3, mientras que las interfaces de botón-botón y agujero-agujero no favorecen la homodimerización debido al impedimento estérico y la interrupción de las interacciones favorables, respectivamente.

[0098] En algunas modalidades, la proteína de unión multiespecífica está en la forma de inmunoglobulina de dominio variable dual (DVD-IgTM), que combina los dominios de unión al objetivo de dos anticuerpos monoclonales a través de enlazadores naturales flexibles y produce una molécula tipo IgG tetravalente.

[0099] En algunas modalidades, la proteína de unión multiespecífica se encuentra en la forma de interfaz Fab ortogonal (Ortho-Fab). En el enfoque orto-Fab IgG (Lewis SM, Wu X, Pustilnik A, Sereno A, Huang F, Rick HL, Generación de anticuerpos IgG biespecíficos mediante el diseño basado en la estructura de una interfaz Fab ortogonal. *Nat. Biotechnol.* (2014) 32(2):191–8), el diseño regional basado en la estructura introduce

mutaciones complementarias en la interfaz LC y HC_{VH-CH1} en un solo fragmento Fab, sin que se realicen cambios en el otro fragmento Fab.

[0100] En algunas modalidades, la proteína de unión multiespecífica está en el formato de Ig 2 en 1. En algunas modalidades, la proteína de unión multiespecífica está en forma ES, que es un constructo heterodimérico que contiene dos fragmentos Fab diferentes que se unen al objetivo 1 y objetivo 2 fusionados a Fc. La heterodimerización está asegurada por mutaciones de dirección electrostática en el Fc.

[0101] En algunas modalidades, la proteína de unión multiespecífica está en la forma κλ-Body, que es un constructo heterodimérico con dos fragmentos Fab diferentes fusionados a Fc estabilizados por mutaciones de heterodimerización: El antígeno 1 que se dirige al fragmento Fab 1 contiene kappa LC, mientras que el segundo antígeno 2 dirigido al fragmento Fab contiene lambda LC. La Fig. 13A es una representación ejemplar de una forma de un κλ-Body; Figura 13B es una representación ejemplar de otro κλ-Body.

[0102] En algunas modalidades, la proteína de unión multiespecífica está en forma de intercambio de brazos Fab (anticuerpos que intercambian brazos de fragmentos Fab intercambiando una cadena pesada y una cadena ligera unida (media molécula) con un par de cadenas ligeras pesadas de otra molécula, lo que da lugar a anticuerpos biespecíficos).

[0103] En algunas modalidades, la proteína de unión multiespecífica está en la forma SEED Body. La plataforma de dominio de ingeniería de intercambio de cadenas (SEED) se diseñó para generar moléculas similares a anticuerpos asimétricas y biespecíficas, una capacidad que amplía las aplicaciones terapéuticas de los anticuerpos naturales. Esta plataforma de ingeniería de proteínas se basa en el intercambio de secuencias de inmunoglobulina relacionadas estructuralmente dentro de los dominios CH3 conservados. El diseño de SEED permite la generación eficiente de heterodímeros AG/GA, mientras que desfavorece la homodimerización de los dominios CH3 de AG y GA SEED. (Muda M. *Protein Eng. Des. Sel.* (2011, 24(5):447-54)).

[0104] En algunas modalidades, la proteína de unión multiespecífica está en la forma LuZ-Y, en la que se usa una cremallera de leucina para inducir la heterodimerización de dos HC diferentes. (Wranik, BJ. *et al.*, *J. Biol. Chem.* (2012), 287:43331-9).

[0105] En algunas modalidades, la proteína de unión multiespecífica está en la forma Cov-X-Body. En CovX-Cuerpos biespecíficos, se unen dos péptidos diferentes utilizando un enlazador de azetidinona ramificado y se fusionan al anticuerpo de armazón en condiciones suaves de una manera específica al sitio. Mientras que los farmacóforos son responsables de las actividades funcionales, el andamio del anticuerpo imparte una vida media prolongada y

una distribución similar a la de las Ig. Los farmacóforos pueden optimizarse químicamente o reemplazarse con otros farmacóforos para generar anticuerpos biespecíficos optimizados o únicos. (Doppalapudi VR, PNAS (2010), 107 (52); 22611-22616).

[0106] En algunas modalidades, la proteína de unión multiespecífica está en una forma heterodimérica Oasc-Fab que incluye la unión del fragmento Fab al objetivo 1 y la unión de scFab al objetivo 2 fusionada a Fc. La heterodimerización está asegurada por mutaciones en Fc.

[0107] En algunas modalidades, la proteína de unión multiespecífica está en una forma DuetMab, que es un constructo heterodimérico que contiene dos fragmentos Fab diferentes que se unen a los antígenos 1 y 2, y Fc estabilizado por mutaciones de heterodimerización. Los fragmentos Fab 1 y 2 contienen puentes diferenciales S-S que aseguran el emparejamiento correcto de LC y HC.

[0108] En algunas modalidades, la proteína de unión multiespecífica está en una forma de CrossmAb, que es un constructo heterodimérico con dos fragmentos Fab diferentes que se unen a los objetivos 1 y 2, fusionados a Fc estabilizados por heterodimerización. Los dominios CL y CH1 y los dominios VH y VL se cambian, por ejemplo, CH1 se fusiona en el marco con VL, mientras que CL se fusiona en el marco con VH.

[0109] En algunas modalidades, la proteína de unión multiespecífica está en una forma de Fit-Ig, que es un constructo homodimérico en el que el fragmento Fab que se une al antígeno 2 se fusiona con el extremo N de HC del fragmento Fab que se une al antígeno 1. El constructo contiene Fc de tipo salvaje.

[0110] Los componentes individuales de las proteínas de unión multiespecíficas se describen con más detalle a continuación.

Sitio de unión a NKG2D

[0111] Tras la unión al receptor NKG2D y al receptor CD16 en las células asesinas naturales, y un antígeno asociado a un tumor en las células cancerosas, las proteínas de unión multiespecíficas se pueden acoplar a más de un tipo de receptor activador de NK y pueden bloquear la unión de ligandos naturales a NKG2D. En ciertas modalidades, las proteínas pueden agonizar las células NK en humanos. En algunas modalidades, las proteínas pueden agonizar las células NK en seres humanos y en otras especies tales como roedores y monos cynomolgus.

[0112] La Tabla 1 enumera las secuencias de péptidos de los dominios variables de la cadena pesada y los dominios variables de cadena ligera que, en combinación, pueden unirse

a NKG2D. En algunas modalidades, el dominio variable de cadena pesada y el dominio variable de cadena ligera están dispuestos en formato Fab. En algunas modalidades, el dominio variable de cadena pesada y el dominio variable de cadena ligera se fusionan juntos a partir de un scFv.

[0113] Los sitios de unión de NKG2D enumerados en la Tabla 1 pueden variar en su afinidad de unión a NKG2D, sin embargo, todos activan células NK humanas.

[0114] A menos que se indique lo contrario, las secuencias CDR proporcionadas en la Tabla 1 se determinan en Kabat.

Tabla 1		
Clones	Secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada	Secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena ligera
ADI-27705	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGLVTV SS (SEQ ID NO:138) CDR1 (SEQ ID NO:140) – GSFSFGYYWS CDR2 (SEQ ID NO:141) – EIDHSGSTNYPNPSLKS CDR3 (SEQ ID NO:142) – ARARGPWSFDP	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SSGSGTEFTLTISLQPDDEFATY YCQQYNSYPITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:139)
ADI-27724	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGLVTV SS (SEQ ID NO:143)	EIVLTQSPGTLSPGERATLS CRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFS GSGSGTDFLTISRLEPEDFAV YYCQQYGSSPITFGGGTKVEI K (SEQ ID NO:144)

ADI- 27740 (A40)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:145)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVIT CRASQSIGSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYHSFYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:146)
ADI- 27741	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:147)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVIT CRASQSIGSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQSNSYYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:148)
ADI- 27743	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:149)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYNSYPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:150)
ADI- 28153	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWGFDPWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:151)	ELQMTQSPSSLSASVGDRVIT CRTSQSISSYLNWYQQKPGQP PKLLIYWASTRESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISSLQPEDSATYY CQQSYDIPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:152)
ADI- 28226 (C26)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY	DIQMTQSPSTLSASVGDRVIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYGSFPITFGGGTKVEIK

	YCARARGPWSFDPWGQGLVTV SS (SEQ ID NO:153)	(SEQ ID NO:154)
ADI- 28154	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGLVTV SS (SEQ ID NO:155)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPDDFATY YCQQSKEVPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:156)
ADI- 29399	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGLVTV SS (SEQ ID NO:157)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDDFATY YCQQYNSFPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:158)
ADI- 29401	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGLVTV SS (SEQ ID NO:159)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSIGSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDDFATY YCQQYDIYPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:160)
ADI- 29403	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGLVTV SS (SEQ ID NO:162)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDDFATY YCQQYDSYPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:163)
ADI- 29405	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK

	WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGLVTV SS (SEQ ID NO:164)	APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYGSFPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:165)
ADI- 29407	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGLVTV SS (SEQ ID NO:166)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYQSFPFSGGGTKVEIK (SEQ ID NO:167)
ADI- 29419	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGLVTV SS (SEQ ID NO:168)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYSSFSTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:169)
ADI- 29421	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGLVTV SS (SEQ ID NO:170)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYESYSTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:171)
ADI- 29424	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGLVTV SS (SEQ ID NO:172)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYDSFITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:173)

ADI-29425	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTLLVTV SS (SEQ ID NO:174)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYQSYPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:175)
ADI-29426	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTLLVTV SS (SEQ ID NO:176)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSISGWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYHSFPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:177)
ADI-29429	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTLLVTV SS (SEQ ID NO:178)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSISGWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYELYSYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:179)
ADI-29447 (F47)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTLLVTV SS (SEQ ID NO:180)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYDTFITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:181)
ADI-27727	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLE WMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTI TAEDESTSTAYMELSSLRSEDVAV	DIVMTQSPDSLAVSLGERATIN CKSSQSVLYSSNNKNYLAWY QQKPGQPPKLLIYWASTRESG VPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQ

	YYCARGDSSIRHAYYYYGMDVW GQGTTVTVSS (SEQ ID NO:182) CDR1 (SEQ ID NO:184) – GTFSSY AIS (no-Kabat) o SYAIS (SEQ ID NO:185) CDR2 (SEQ ID NO:186) – GIIPIFGTANYAQKFQG CDR3 (SEQ ID NO:189) – ARGDSSIRHAYYYYGMDV (no-Kabat) o GDSSIRHAYYYYGMDV (SEQ ID NO:190)	AEDVAVYYCQQYYSTPITFGG GTKVEIK (SEQ ID NO:183) CDR1 (SEQ ID NO:187) – KSSQSVLYSSNNKNYLA CDR2 (SEQ ID NO:188) – WASTRES CDR3 (SEQ ID NO:191) – QQYYSTPIT
ADI- 29443 (F43)	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTV SGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLE WIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY CARGSDRFHPYFDYWGQGLVT VSS (SEQ ID NO:192) CDR1 (SEQ ID NO:193) – GSISSSSYYWG (no-Kabat) o SSSYYWG (SEQ ID NO:194) CDR2 (SEQ ID NO:195) – SIYYSGSTYYNPSLKS CDR3 (SEQ ID NO:196) – ARGSDRFHPYFDY (no-Kabat) o GSDRFHPYFDY (SEQ ID NO:197)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSRYLAWYQQKPGQ APRLLIYDASNRATGIPARFSG SSGTDFTLTISSLEPEDFAVY YCQQFDTWPPTFGGGGTKVEIK (SEQ ID NO:161) CDR1 (SEQ ID NO:198) – RASQSVSRYLA CDR2 (SEQ ID NO:199) – DASNRAT CDR3 (SEQ ID NO:200) – QQFDTWPPT
ADI- 29404 (F04)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SSGTEFTLTISLQPDDEFATY YCEQYDSYPTFGGGGTKVEIK

	YCARARGPWSFDPWGQGLVTV SS (SEQ ID NO:201)	(SEQ ID NO:202)
ADI- 28200	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLE WMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTI TADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARRGRKASGSFY YYYGMDVWGQGT TVTVSS (SEQ ID NO:203) CDR1 (SEQ ID NO:184) – GTFSSYAIS CDR2 (SEQ ID NO:205) – GIPIFGTANYAQKFQ G CDR3 (SEQ ID NO:206) – ARRGRKASGSFY YYYGMDV	DIVMTQSPDSLAVSLGERATIN CESSQSLLNSGNQKNYLTWY QQKPGQPPKPLIYWASTRESG VPDRFSGSGSGTDFTLT ISSLQAEDVAVYYCQNDYSYPYTFG QGTKLEIK (SEQ ID NO:204) CDR1 (SEQ ID NO:207) – ESSQSLLNSGNQKNYLT CDR2 (SEQ ID NO:188) – WASTRES CDR3 (SEQ ID NO:208) – QNDYSYPYT
ADI- 29379 (E79)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQG LEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGR VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGAPNYGDTTHDYYY MDVWGKGT TVTVSS (SEQ ID NO:209) CDR1 (SEQ ID NO:211) – YTFTSYMH (no-Kabat) o SYMH (SEQ ID NO:212) CDR2 (SEQ ID NO:213) - IINPSGGSTSYAQKFQ G CDR3 (SEQ ID NO:214) – ARGAPNYGDTTHDYYYMDV (no- Kabat) o GAPNYGDTTHDYYYMDV (SEQ ID NO:215)	EIVMTQSPATLSVSPGERATLS CRASQSVSSNLAWYQQKPGQ APRLLIYGASTRATGIPARFSG SGSGTEFTLT ISSLQSEDFAVY YCQYDDWPFTFGGGTKVEI K (SEQ ID NO:210) CDR1 (SEQ ID NO:216) - RASQSVSSNLA CDR2 (SEQ ID NO:217) - GASTRAT CDR3 (SEQ ID NO:218) - QQYDDWPFT

ADI- 29463 (F63)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTGYMHVWRQAPGQG LEWMGWINPNSGGTNYAQKFQG RVTMTRDTSISTAYMELSRLRSD DTAVYYCARDTGEYYDTDDHGM DVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:219) CDR1 (SEQ ID NO:221) - YTFTGYMH (no-Kabat) o GYMH (SEQ ID NO:222) CDR2 (SEQ ID NO:223) - WINPNSGGTNYAQKFQG CDR3 (SEQ ID NO:224) – ARDTGEYYDTDDHGMDV (no- Kabat) o DTGEYYDTDDHGMDV (SEQ ID NO:225)	EIVLTQSPGTLSPGERATLS CRASQSVSSNLAWYQQKPGQ APRLLIYGASTRATGIPARFSG SGSGTEFTLTISLQSEDFAVY YCQQDDYWPPTFGGGGTKVEI K (SEQ ID NO:220) CDR1 (SEQ ID NO:226) - RASQSVSSNLA CDR2 (SEQ ID NO:217) - GASTRAT CDR3 (SEQ ID NO:227) - QQDDYWPPT
ADI- 27744 (A44)	EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLE WVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAKDGGYYDSGAGDYWGQG TLVTVSS (SEQ ID NO:228) CDR1 (SEQ ID NO:230) – FTFSSYAMS (no-Kabat) o SYAMS (SEQ ID NO:231) CDR2 (SEQ ID NO:232) - AISGSGGSTYYADSVKG CDR3 (SEQ ID NO:233) - AKDGGYYDSGAGDY (no-Kabat) o DGGYYDSGAGDY (SEQ ID NO:234)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTIT CRASQGIDSWLAWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQGVSYPRTEFGGGGTKVEIK (SEQ ID NO:229) CDR1 (SEQ ID NO:235) - RASQGIDSWLA CDR2 (SEQ ID NO:236) - AASSLQS CDR3 (SEQ ID NO:237) - QQGVSYPRTE

ADI- 27749 (A49)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCA ASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGAPMGAAAGWFDPWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO:238) CDR1 (SEQ ID NO:240) - FTFSSYSMN (no-Kabat) o SYSMN (SEQ ID NO:241) CDR2 (SEQ ID NO:242) - SISSSSSYIYYADSVKG CDR3 (SEQ ID NO:243) – ARGAPMGAAAGWFDP (no-Kabat) o GAPMGAAAGWFDP (SEQ ID NO:244)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITIT CRASQGISSWLAWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQGVSFPRTFGGGGTKVEIK (SEQ ID NO:239) CDR1 (SEQ ID NO:276) - RASQGISSWLA CDR2 (SEQ ID NO:236) - AASSLQS CDR3 (SEQ ID NO:245) - QQGVSPRT
	scFv (VL-VH) con Q44C en VH y G100C en VL, enlazador subrayado: DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYICQQGVSP PRTFGCGTKVEIK<u>GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSE</u>EVQLVESGGGLV KPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKCLEWVSSISSSSSYIY YADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAPMGAA AGWFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:246)	
ADI- 29378 (E78)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQG LEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGR VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAREGAGFAYGMDYYY MDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:247) CDR1 (SEQ ID NO:211) – YTFTSYMH (no-Kabat) o SYMH (SEQ ID NO:212)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPGQ APRLIYDASNRATGIPARFSG SGSGTDFTLTISLEPEDFAVY YCQQSDNWPFTFGGGGTKVEIK (SEQ ID NO:248) CDR1 (SEQ ID NO:252) - RASQSVSSYLA CDR2 (SEQ ID NO:199) - DASNRAT

	CDR2 (SEQ ID NO:249) - IINPSGGSTSYAQKFQG CDR3 (SEQ ID NO:250) – AREGAGFAYGMDYYYYMDV (no-Kabat) o EGAGFAYGMDYYYYMDV (SEQ ID NO:251)	CDR3 (SEQ ID NO:253) - QQSDNWPFT
A49MI	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCA ASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGAPIGAAAGWFDPWGQG TLVTVSS (SEQ ID NO:254) CDR1: FTFSSYSMN (SEQ ID NO:240) (no-Kabat) o SYSMN (SEQ ID NO:241) CDR2: SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID NO:242) CDR3: (no-Kabat) ARGAPIGAAAGWFDP (SEQ ID NO:255) o GAPIGAAAGWFDP (SEQ ID NO:256)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITIT CRASQGISSWLAWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQGVSPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:239) CDR1 (SEQ ID NO:276) - RASQGISSWLA CDR2 (SEQ ID NO:236) - AASSLQS CDR3 (SEQ ID NO:245) - QQGVSPRT
A49MQ	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCA ASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGAPQGAAAGWFDPWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO:257) CDR1: FTFSSYSMN (SEQ ID NO:240) (no-Kabat) o SYSMN (SEQ ID NO:241) CDR2: SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID NO:242)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITIT CRASQGISSWLAWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQGVSPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:239) CDR1 (SEQ ID NO:276) - RASQGISSWLA CDR2 (SEQ ID NO:236) - AASSLQS CDR3 (SEQ ID NO:245) - QQGVSPRT

	CDR3 (no-Kabat) (SEQ ID NO:258) - ARGAP Q GAAAGWFDP o CDR3 (SEQ ID NO:259) - GAP Q GAAAGWFDP	
A49ML	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCA ASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGAP L GAAAGWFDPWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO:260) CDR1: FTFSSYSMN (SEQ ID NO:240) (no-Kabat) o SYSMN (SEQ ID NO:241) CDR2: SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID NO:242) CDR3 (no-Kabat) (SEQ ID NO:261) - ARGAP L GAAAGWFDP o CDR3 (SEQ ID NO:262) - GAP L GAAAGWFDP	DIQMTQSPSSVSASVGDRVIT CRASQGISSWLAWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQGVSPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:239) CDR1 (SEQ ID NO:276) - RASQGISSWLA CDR2 (SEQ ID NO:236) - AASSLQS CDR3 (SEQ ID NO:245) - QQGVSPRT
A49MF	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCA ASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGAP F GAAAGWFDPWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO:263) CDR1: FTFSSYSMN (SEQ ID NO:240) (no-Kabat) o SYSMN (SEQ ID NO:241) CDR2: SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID NO:242)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVIT CRASQGISSWLAWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQGVSPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:239) CDR1 (SEQ ID NO:276) - RASQGISSWLA CDR2 (SEQ ID NO:236) - AASSLQS CDR3 (SEQ ID NO:245) - QQGVSPRT

	CDR3 (no-Kabat) (SEQ ID NO:264) - ARGAPFGAAAGWFDP o CDR3 (SEQ ID NO:265) - GAPFGAAAGWFDP	
A49MV	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCA ASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGAPVGAAAGWFDPWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO:266) CDR1: FTFSSYSMN (SEQ ID NO:240) (no-Kabat) o SYSMN (SEQ ID NO:241) CDR2: SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID NO:242) CDR3 (no-Kabat) (SEQ ID NO:267) - ARGAPVGAAAGWFDP o CDR3 (SEQ ID NO:268) - GAPVGAAAGWFDP	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITIT CRASQGISSWLAWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQGVSPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:239) CDR1 (SEQ ID NO:276) - RASQGISSWLA CDR2 (SEQ ID NO:236) - AASSLQS CDR3 (SEQ ID NO:245) - QQGVSPRT
A49- consenso	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCA ASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGAPXGAAAGWFDPWGQ GTLVTVSS, en donde X ies M, L, I, V, Q, o F (SEQ ID NO:269) CDR1: FTFSSYSMN (SEQ ID NO:240) (no-Kabat) o SYSMN (SEQ ID NO:241) CDR2: SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID NO:242)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITIT CRASQGISSWLAWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQGVSPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:239) CDR1 (SEQ ID NO:276) - RASQGISSWLA CDR2 (SEQ ID NO:236) - AASSLQS CDR3 (SEQ ID NO:245) - QQGVSPRT

	CDR3 (no-Kabat) (SEQ ID NO:270) - ARGAPXGAAAGWFDP o CDR3 (SEQ ID NO:271) – GAPXGAAAGWFDP, en donde X es M, L, I, V, Q, o F	
ligando de NKG2D en 9,273,136 EE.UU.	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCA ASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGL EWVAFIRYDGSNKYYADSVKGRF TISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAKDRGLGDGTYFDYWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:272)	QSALTQPASVSGSPGQSITISCS GSSSNIGNNAVNWYQQLPGK APKLLIYYDDLPSGVSDRFSG SKSGTSAFLAISGLQSEDEADY YCAAWDDSLNGPVFGGGTKL TVL (SEQ ID NO:273)
ligando de NKG2D en 7,879,985 EE.UU.	QVHLQESGPGLVKPSETLSLTCTV SDDSISSYYWSWIRQPPGKGLEWI GHISYSGSANYNPSLKSRTISVD TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC ANWDDAFNIWGQGTMTVSS (SEQ ID NO:274)	EIVLTQSPGTLSPGERATLS CRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQYGSSPWTFGQGTKVEI K (SEQ ID NO:275)

[0115] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D (por ejemplo, NKG2D humano) comprende un dominio variable de cadena pesada de anticuerpo (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica al VH de un anticuerpo descrito en la Tabla 1, y un dominio variable de cadena ligera (VL) de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente el 95%, aproximadamente el 96%, aproximadamente el 97%, aproximadamente el 98%, aproximadamente el 99% o el 100%) idéntica al VH del mismo anticuerpo descrito en la Tabla 1. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión a antígeno comprende las cadenas pesadas CDR1, CDR2 y CDR3 y las cadenas ligeras CDR1, CDR2 y CDR3, determinadas bajo Kabat (véase Kabat et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH Publication No. 91-3242, Bethesda), Chotia (véase, por

ejemplo, Chothia C & Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196: 901-917), MacCallum (véase MacCallum RM, (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 ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno comprende las cadenas pesadas CDR1, CDR2 y CDR3 y las cadenas ligeras CDR1, CDR2, y CDR3 de un anticuerpo descrito en la Tabla 1.

[0116] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende un dominio variable de cadena pesada relacionado con SEQ ID NO: 138, tal como al tener una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 138, y/o incorporando secuencias de aminoácidos idénticas a las secuencias de CDR1 (SEQ ID NO: 140), CDR2 (SEQ ID NO: 141) y CDR3 (SEQ ID NO: 142) de SEQ ID NO: 138. El dominio variable de cadena pesada relacionado con SEQ ID NO: 138 puede acoplarse con una variedad de dominios variables de cadena ligera para formar un sitio de unión a NKG2D. Por ejemplo, el primer sitio de unión a antígeno que incorpora un dominio variable de cadena pesada relacionado con SEQ ID NO: 138 puede incorporar además un dominio variable de cadena ligera seleccionado de cualquiera de las secuencias relacionadas con SEQ ID NO: 139, 144, 146, 148, 150, 154, 156, 158, 160, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, y 181. Por ejemplo, el primer sitio de unión al antígeno incorpora un dominio variable de cadena pesada con secuencias aminoácidas aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 138 y un dominio variable de cadena ligera con secuencias de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 90%, aproximadamente 91%, aproximadamente 92 %, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a cualquiera de las secuencias seleccionadas de SEQ ID NO: 139, 144, 146, 148, 150, 154, 156, 158, 160, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, y 181.

[0117] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente

el 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 182, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 183. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 184 o 185, 186 y 189 o 190, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 187, 188 y 191, respectivamente. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 184 o 185, 186 y 189 o 190, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 187, 188 y 191, respectivamente.

[0118] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente el 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 192, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 161. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 193 o 194, 195 y 196 o 197, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 198, 199 y 200, respectivamente. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 193 o 194, 195 y 196 o 197, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 198, 199 y 200, respectivamente.

[0119] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente el 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 201, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 202.

[0120] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente el 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 203, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 204. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 184, 205 y 206, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 207, 188 y 208, respectivamente. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 184, 205 y 206, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 207, 188 y 208, respectivamente.

[0121] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente el 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 209, y una VL que comprende una secuencia de

aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 210. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 211 o 212, 213 y 214 o 215, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 216, 217 y 218, respectivamente. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 211 o 212, 213 y 214 o 215, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 216, 217 y 218, respectivamente.

[0122] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente el 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 219, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 220. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 221 o 222, 223 y 224 o 225, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 226, 217 y 227, respectivamente. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 221 o 222, 223 y 224 o 225, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 226, 217 y 227, respectivamente.

[0123] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente el 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%,

aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 247, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 248. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 211 o 212, 249 y 250 o 251, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 252, 199 y 253, respectivamente. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 211 o 212, 249 y 250 o 251, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 252, 199 y 253, respectivamente.

[0124] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente el 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 228, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 229. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 230 o 231, 232 y 233 o 234, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 235, 236 y 237, respectivamente. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 230 o 231, 232 y 233 o 234, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 235, 236 y 237, respectivamente.

[0125] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente

el 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 238, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 239. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 240 o 241, 242 y 243 o 244, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 240 o 241, 242 y 243 o 244 respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente.

[0126] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente el 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 254, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 239. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 240 o 241, 242 y 255 o 256, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 240 o 241, 242 y 255 o 256, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente.

[0127] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente el 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 257, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 239. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 240 o 241, 242 y 258 o 259, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 240 o 241, 242 y 258 o 259, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente.

[0128] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente el 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 260, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 239. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 240 o 241, 242 y 261 o 262, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 240 o 241, 242 y 261 o 262, respectivamente; y (b) una VL

que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente.

[0129] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente el 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 263, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 239. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 240 o 241, 242 y 264 o 265, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 240 o 241, 242 y 264 o 265, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente.

[0130] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente el 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 266, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 239. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 240 o 241, 242 y 267 o 268, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno

comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 240 o 241, 242 y 267 o 268, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente.

[0131] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente el 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 269, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 239. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 240 o 241, 242 y 270 o 271, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente. En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 240 o 241, 242 y 270 o 271, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente.

[0132] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente el 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 272, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 273.

[0133] En ciertas modalidades, el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente

el 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 274, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 275.

[0134] Las proteínas de unión multiespecíficas pueden unirse a células que expresan NKG2D, que incluyen, pero no se limitan a, células NK, células T $\gamma\delta$ y células T CD8⁺ $\alpha\beta$. Tras la unión de NKG2D, las proteínas de unión multiespecíficas pueden bloquear ligandos naturales, como ULBP6 y MICA, para que no se unan a NKG2D y activen las células NK.

[0135] Las proteínas de unión multiespecíficas se unen a células que expresan CD16, un receptor Fc en la superficie de los leucocitos, que incluyen las células asesinas naturales, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, mastocitos y células dendríticas foliculares. Una proteína de la presente descripción se une a NKG2D con una afinidad K_D de 2 nM a 120 nM, por ejemplo, 2 nM a 110 nM, 2 nM a 100 nM, 2 nM a 90 nM, 2 nM a 80 nM, 2 nM a 70 nM, 2 nM a 60 nM, 2 nM a 50 nM, 2 nM a 40 nM, 2 nM a 30 nM, 2 nM a 20 nM, 2 nM a 10 nM, aproximadamente 15 nM, aproximadamente 14 nM, aproximadamente 13 nM, aproximadamente 12 nM, aproximadamente 11 nM, aproximadamente 10 nM, aproximadamente 9 nM, aproximadamente 8 nM, aproximadamente 7 nM, aproximadamente 6 nM, aproximadamente 5 nM, aproximadamente 4,5 nM, aproximadamente 4 nM, aproximadamente 3,5 nM, aproximadamente 3 nM, aproximadamente 2,5 nM, aproximadamente 2 nM, aproximadamente 1,5 nM, aproximadamente 1 nM, aproximadamente 0.5 nM a 1 nM, aproximadamente 1 nM a 2 nM, aproximadamente 2 nM a 3 nM, aproximadamente 3 nM a 4 nM, aproximadamente 4 nM a 5 nM, aproximadamente 5 nM a 6 nM, aproximadamente 6 nM a 7 nM, aproximadamente 7 nM a 8 nM, aproximadamente 8 nM a 9 nM, aproximadamente 9 nM a 10 nM, aproximadamente 1 nM a 10 nM, aproximadamente 2 nM a 10 nM, aproximadamente 3 nM a 10 nM, aproximadamente 4 nM a 10 nM, aproximadamente 5 nM a 10 nM, aproximadamente 6 nM a 10 nM, aproximadamente 7 nM a 10 nM, o aproximadamente 8 nM a 10 nM. En algunas modalidades, los sitios de unión a NKG2D se unen a NKG2D con una K_D de 10 a 62 nM.

Sitio de unión a FLT3

[0136] El sitio de unión a FLT3 de la proteína de unión multiespecífica descrita aquí comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera. La Tabla 2 2 enumera algunas secuencias ejemplares de dominios variables de cadena pesada y dominios variables de cadena ligera que, en combinación, pueden unirse a FLT3. Las secuencias de CDR se identifican con la numeración de Chothia.

Tabla 2: Secuencias de sitios de unión a antígenos ejemplares que se unen a FLT3

Clón	VH	VL
12H10.G7	EVQLQESGP ~~E~~ LVKPGASVKMSCKASGYTFTRYVMHWVKQRP GQGLEWIGFINPYNDDTKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMEL SSLTSEDSAVYH ~~C~~ ARWRQLGSLDSWGQGTTTLTVSS [SEQ ID NO:1] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDITYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLES ~~G~~ VPARFSGSGSRSDFTLTIDPVEADDAATYYCQ QNNEEPWTFGGG ~~T~~ CKLEIK [SEQ ID NO:2] CDR1: RASESVDITYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
12H10.G7 humanizado GB87/GB95 (mutaciones inversas en VH y VL subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRL ~~E~~ WMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYH ~~C~~ ARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSS [SEQ ID NO:9] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDITYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLES ~~G~~ VPDRFSGSGSR ~~T~~ DTFTLTIS ~~S~~ LQAEDAATYYCQNNEEPWTFGGG ~~T~~ CKVEIK [SEQ ID NO:10] CDR1: RASESVDITYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
ScFv de 12H10.G7 GB87/GB95 humanizado	GB87 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYH ~~C~~ ARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDITYGSSFVHWY	

Clón	VH	VL
	QQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDA ATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:3] GB95 (VL-VH): DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVY HCARWRQLGSLDSWGQGT TVTVSS [SEQ ID NO:12]	
12H10.G7 humanizado GB88/GB96 (mutaciones inversas en VH y VL subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQA PGQRLEWMGFINPYNDDTKY NEKFKGRVTITRDTSASTAYM ELSSLRSEDTAVYH CARWRQL GSLDSWGQGT TVTVSS [SEQ ID NO:13] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPASLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGS GSRTDFTLTISLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGGGKVEIK [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.G7 GB88/GB96 humanizado	GB88 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQ CLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSE DTAVYH CARWRQLGSLDSWGQGT TVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SGGGSDIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWY QQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDA ATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:15] GB96 (VL-VH): DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVY H CARWRQLGSLDSWGQGT TVTVSS	

Clón	VH	VL
	[SEQ ID NO:16]	
12H10.G7 humanizado GB89/GB97 (mutaciones inversas en VH y VL subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQA PGQRLEWMGFNPYNDDTKY NEKFKGRVTITSDTSASTAYM ELSSLRSED~~T~~AVYYCARWRQL GSLDSWGQGTTVTVSS [SEQ ID NO:17] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPASLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGS GSRTDFTLTISLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGGGTKVEIK [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.G7 GB89/GB97 humanizado	GB89 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQ CLEWMGFNPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSE DTAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SGGGSDIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWY QQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDA ATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:19] GB97 (VL-VH): DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFNPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSED~~T~~AVY YCARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS [SEQ ID NO:20]	
12H10.G7 humanizado GB90/GB98 (mutaciones inversas en VH y VL subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQA PGQRLEWMGFNPYNDDTKY NEKFKGRVTITSDTSASTAYM ELSSLRSED~~T~~AVYH<u>C</u>ARWRQL GSLDSWGQGTTVTVSS [SEQ ID NO:9] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11]	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGS GSRTDFTLTISLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGGGTKVEIK [SEQ ID NO:22] CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6]

Clón	VH	VL
	CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
ScFv de 12H10.G7 GB90/GB98 humanizado	GB90 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQ CLEWMGFNIPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSE DTAVYHCARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWY QQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDA ATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:23] GB98 (VL-VH): DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFNIPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVY HCARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS [SEQ ID NO:24]	
12H10.G7 humanizado GB91/GB99 (mutaciones inversas en VH y VL subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQA PGQRLEWMGFNIPYNDDTKY NEKFKGRVTITSDTSASTAYM ELSSLRSEDTAVYH<u>CARWRQL</u> GSLDSWGQGTTVTVSS [SEQ ID NO:9] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSP<u>AS</u>LAVSLGERATINC RASESVDTYGSSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISLQAEDA<u>AT</u>YYC QQNNEEPWTFGGG<u>TK</u>VEIK [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.G7 GB91/GB99 humanizado	GB91 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQ CLEWMGFNIPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSE DTAVYHCARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSDIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWY QQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDA ATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK	

Clón	VH	VL
	[SEQ ID NO:27] GB99 (VL-VH): DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFNPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVY HCARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS [SEQ ID NO:28]	
12H10.G7 humanizado GB92/GB10 0 (mutaciones inversas en VH y VL subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQA PGQRLEWMGFNPYNDDTKY NEKFKGRVTITSDTSASTAYM ELSSLRSEDTAVYH<u>HCARWRQL</u> GSLDSWGQGTTVTVSS [SEQ ID NO:9] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPASLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGS GSRTDFTLTISSLQAEDVATYYC QQNNEEPWTFGGGTKVEIK [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.G7 GB92/GB10 0 humanizado	GB92 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQ CLEWMGFNPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSE DTAVYH<u>HCARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGG</u> SGGGGSDIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWY QQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDV ATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:31] GB100 (VL-VH): DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISSLQAEDVATYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFNPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVY HCARWRQLGSLDSWGQGTTVTV [SEQ ID NO:32]	

Clón	VH	VL
12H10.G7 humanizado GB93/GB10 1 (mutaciones inversas en VH y VL subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQA PGQRLEWMGFNPYNDDTKY NEKFKGRVTITSDTSASTAYM ELSSLRSEDTAVYH<u>HCARWRQL</u> GSLDSWGQGTTTVTVSS [SEQ ID NO:9] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPASLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGS GSRTDFTLTISLQAEDA<u>AAVYYC</u> QQNNEEPWTFGGGKVEIK [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.G7 GB93/GB10 1 humanizado	GB93 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQ CLEWMGFNPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSE DTAVYH<u>HCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGG</u> SGGGGSDIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWY QQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDA AVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:35] GB101 (VL-VH): DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDA<u>AAVYYC</u> QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLV QSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFNPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVY H<u>CARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSS</u> [SEQ ID NO:36]	
Humanizado 12H10.G7 GB94 / GB102	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQA PGQRLEWMGFNPYNDDTKY NEKFKGRVTITRDTSASTAYM ELSSLRSEDTAVYYCARWRQL GSLDSWGQGTTTVTVSS [SEQ ID NO:37] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4]	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISLQAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGGGKVEIK [SEQ ID NO:38] CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7]

Clón	VH	VL
	CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
ScFv de 12H10.G7 GB94/GB102 humanizado	GB94 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQ CLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSE DTAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGG SGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFFVHWY QQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDV AVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:39] GB102 (VL-VH): DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVY YCARWRQLGSLDSWGQGTITVTVSS [SEQ ID NO:40]	
12H10.G7 GB102 D101E Humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQA PGQRLEWMGFINPYNDDTKY NEKFKGRVTITRDTSASTAYM ELSSLRSEDTAVYYCARWRQL GSLESWGQGTITVTVSS [SEQ ID NO:41] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISLQAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:42] CDR1: RASESVDTYGSSFFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
ScFv de 12H10.G7 GB102 D101E humanizado	VH-VL: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQ CLEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSE DTAVYYCARWRQLGSLESWGQGTITVTVSSGGGGSGGGGSGGGG GGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFFVHWY QQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDV AVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:43]	

Clón	VH	VL
	VL-VH: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWM GFNPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVY YCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSS [SEQ ID NO:44]	
12H10.G7 GB102 M34I Humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVIHWVRQAP GQRLEWMGFNPYNDDTKYN EKFKGRVTITRDTSASTAYME LSSLRSEDVAVYYCARWRQL GSLDSWGQGTTTVTVSS [SEQ ID NO:45] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISLQAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIK [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.G7 GB102 M34I humanizado	VH-VL: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQC LEWMGFNPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSED TAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWY QQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGGTDFTLTISSLQAEDV AVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:47] VL-VH: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSQVQLV QSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWMG FINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYY CARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSS [SEQ ID NO:48]	

Clón	VH	VL
12H10.G7 GB102 M34I/D101E Humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVIHWVRQAP GQRLEWMGFINPYNDDTKYN EKFKGRVTITRDTASTAYME LSSLRSEDTAVYYCARWRQL GSLESWGQGTTTVTVSS [SEQ ID NO:49] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLES [SEQ ID NO:50]	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISLQAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIK [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.G7 GB102 M34I/D101E humanizado	VH-VL: QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQC LEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSED TAVYYCARWRQLGSLESWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQ QKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVA VYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:51] VL-VH: DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLV QSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQC LEWMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYY CARWRQLGSLESWGQGTTTVTVSS [SEQ ID NO:52]	
12H10.G7 humanizado consenso 1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVX₁HWVRQ APGQRLEWMGFINPYNDDTK YNEKFKGRVTITRDTASTAY MELSSLRSEDTAVYYCARWR QLGSLX₂SWGQGTTTVTVSS donde X₁ es M o I, y X₂ es E o D [SEQ ID NO:53]	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASESVDTYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISLQAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:42] CDR1: RASESVDTYGSSFVH [SEQ ID NO:6]

Clón	VH	VL
	CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLXS, donde X es E o D [SEQ ID NO:55]	CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
12H10.G7 humanizado consenso 2	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVMHWVRQA PGQRLEWMGFINPYNDDTKY NEKFKGRVTITX₁DTSASTAY MELSSLRSEDVAVYX₂CARWR QLGSLDSWGQGTITVTVSS donde X₁ es S o R, y X₂ es Y o H [SEQ ID NO:56] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLDS [SEQ ID NO:5]	DIVMTQSPX₁SLAVSLGERATINC RASESVDITYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGS GSX₂TDFTLTISSLQAEDX₃AX₄YY CQQNNEEPWTFGGGTKVEIK donde X₁ es A o D, X₂ es R o G, X₃ es A o V y X₄ es T o V [SEQ ID NO:57] CDR1: RASESVDITYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
12H10.G7 humanizado consenso 3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTRYVX₁HWVRQ APGQCLEWMGFINPYNDDTK YNEKFKGRVTITRDTSASTAY MELSSLRSEDVAVYYCARWR QLGSLX₂SWGQGTITVTVSS donde X₁ es M o I, y X₂ es E o D [SEQ ID NO:58] CDR1: GYTFTRY [SEQ ID NO:11] CDR2: NPYNDD [SEQ ID NO:4] CDR3: WRQLGSLXS, donde X es E o D [SEQ ID NO:55]	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC RASESVDITYGSSFVHWYQQKPG QPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:42] CDR1: RASESVDITYGSSFVH [SEQ ID NO:6] CDR2: LASNLES [SEQ ID NO:7] CDR3: QQNNEEPWT [SEQ ID NO:8]
14A5.E8	EVQLQESGAELVQPGASVRLS CKASGYTFTSYWINWVKQRP GQGLEWIGNIYPGSSIINYEN FKNRATLTVDTSSTAYMQLS SLTSDDSAVYYCARRVYLYF	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTC SASSSVSYMHWYQQKSGTSPKR WIYDTSKLASGVPARFSGSGSGT SYSLTISSMEAEDAATYYCQQWT SKSPTFGGGGTKLEIK

Clón	VH	VL
	DYWGQGTTTLTVSS [SEQ ID NO:60] CDR1: GYTFTSY [SEQ ID NO:62] CDR2: YPGSSI [SEQ ID NO:63] CDR3: RVVYLYFDY [SEQ ID NO:64]	[SEQ ID NO:61] CDR1: SASSSVSYMH [SEQ ID NO:65] CDR2: DTSKLAS [SEQ ID NO:66] CDR3: QQWTSKSPT [SEQ ID NO:67]
14A5.E8 humanizado 1551/1552 (mutaciones inversas en VH y VL subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGYTFTSYWINWVRQRP GKGLEWMGNIYPGSSIIINYNENFKNRVTMTVDTSSTDTAYME LSSLRSEDTAVYYCARRVVYL YFDYWGQGTLTVSS [SEQ ID NO:68] CDR1: GYTFTSY [SEQ ID NO:62] CDR2: YPGSSI [SEQ ID NO:63] CDR3: RVVYLYFDY [SEQ ID NO:64]	EIVLTQSPATLSLSPGEEKATLSCS ASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLL IYDTSKLASGIPARFSGSGSGTSF TLTISSLEPEDAAVYYCQQWTSK SPTFGGGTKVEIK [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.E8 1551/1552 humanizado	1551 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGYTFTSYWINWVRQRP GKC LEWMGNIYPGSSIIINYNENFKNRVTMTVDTSSTDTAYME LSSLRSEDTAVYYCARRVVYL YFDYWGQGTLTVSS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPGEEKATLSCS ASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLASGIPARFSGSGSGTSFTLTISSLEPEDAAVYYCQQWTSKSPTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:70] 1552 (VL-VH): EIVLTQSPATLSLSPGEEKATLSCS ASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLLIYDTSKLASGIPARFSGSGSGTSFTLTISSLEPEDAAVYYCQQWTSKSPTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGYTFTSYWINWVRQRP GKC LEWMGNIYPGSSIIINYNENFKNRVTMTVDTSSTDTAYME LSSLRSEDTAVYYCARRVVYL YFDYWGQGTLTVSS [SEQ ID NO:71]	
14A5.E8 1553/1554 Humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGYTFTSYWINWVRQAP GKGLEWMGNIYPGSSIIINYNENFKNRVTMTEDTSTDTAYME	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCS ASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLL IYDTSKLASGIPARFSGSGSGTDF TLTISSLEPEDFAVYYCQQWTSK

Clón	VH	VL
	LSSLRSED TAVYYCARRVVYL YFDYWGGQGLVTVSS [SEQ ID NO:72] CDR1: GYTFTSY [SEQ ID NO:62] CDR2: YPGSSI [SEQ ID NO:63] CDR3: RVVYLYFDY [SEQ ID NO:64]	SPTFGGGTKVEIK [SEQ ID NO:73] CDR1: SASSSVSYMH [SEQ ID NO:65] CDR2: DTSKLAS [SEQ ID NO:66] CDR3: QQWTSKSPT [SEQ ID NO:67]
scFv de 14A5.E8 1553/1554 humanizado	1553 (VH-VL): QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGYTFTSYWINWVRQAPGKC LEWMGNIYPGSSIINYNENFKNRVTMTEDTSTD TAYMELSSLRSED TAVYYCARRVVYL YFDYWGGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMH WYQQKPGQAPRLLIYDTSKLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWTSKSPTFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:74] 1554 (VL-VH): EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMH WYQQKPGQAPRLLIYDTSKLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWTSKSPTFGCGTKVEIK GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGYTFTSYWINWVRQAPGKCLEWMGNIYPGSSIINYNENFKNRVTMTEDTSTD TAYMELSSLRSED TAVYYCARRVVYL YFDYWGGQGLVTVSS [SEQ ID NO:75]	
14A5.E8 1689 Humanizado (afinidad madurada desde 1553)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGYTFPYYWINWVRQA PGKLEWMGNIYPGSSIINYN ENFKNRVTMTEDTSTD TAYMELSSLRSED TAVYYCARRNVY LTFDYWGQGLVTVSS [SEQ ID NO:76] CDR1: GYTFPYY [SEQ ID NO:78] CDR2: YPGSSI [SEQ ID NO:63] CDR3: RNVYLTFDY [SEQ ID NO:79]	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCS ASSSVSYIHWYQQKPGQAPRLLI YDTSKLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWTSKSPTFGGGTKVEIK [SEQ ID NO:77] CDR1: SASSSVSYIH [SEQ ID NO:80] CDR2: DTSKLAS [SEQ ID NO:66] CDR3: QQWTSKSPT [SEQ ID NO:67]

Clón	VH	VL
scFv de 14A5.E8 humanizado 1689 (afinidad madurada desde 1553)	VH-VL: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKVSGYTFPYYWINWVRQAPGKC LEWMGNIYPGSSIINYNENFKNRVTMTEDTSTD TAYMELSSLRSED TAVYYCARRNVYLTFDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSG GGS EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYIHWYQQKPGQAPRLLIY DTSK LASGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQQWTSKSP TFGCGTKVEIK [SEQ ID NO:81] VL-VH: EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYIHWYQQKPGQAPRLLIY DTSK LASGIPARFSGSGSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQQWTSKSP TFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKK PGASVKVSKVSGYTFPYYWINWVRQAPGKC LEWMGNIYPGSSII NYNENFKNRVTMTEDTSTD TAYMELSSLRSED TAVYYCARRNVY LTFDYWGQGT LVTVSS [SEQ ID NO:82]	
Consenso 14A5.E8 humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKVSGYTFX₁X₂YWINWVRQ X₃PGKX₄LEWMGNIYPGSSIIN YNENFKNRVTMTX₅DTSX₆DT AYMELSSLRSED TAVYYCARR X₇VY LX₈FDYWGQGT LVTVSS donde X₁ es P o T, X₂ es S o Y, X₃ es A o R, X₄ es C o G, X₅ es V o E, X₆ es S o T, X₇ es N o V y X₈ es T o Y [SEQ ID NO:29] CDR1: GYTFX₁X₂Y, donde X₁ es P o T, y X₂ es S o Y [SEQ ID NO:59] CDR2: YPGSSI [SEQ ID NO:63] CDR3: RX₁VY LX₂FDY, donde X₁ es N o V, y X₂ es T o Y [SEQ ID NO:54]	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCS ASSSVSYXHWYQQKPGQAPRLLI YDTSK LASGIPARFSGSGSGTDFT LT ISSLEPEDFAVYYCQQWTSKS PTFGGGTKVEIK donde X es M o I [SEQ ID NO:84] CDR1: SASSSVSYXH, donde X es M o I [SEQ ID NO:86] CDR2: DTSK LAS [SEQ ID NO:66] CDR3: QQWTSKSPT [SEQ ID NO:67]
11F4.B9	EVQLQESGP ELVKPGASVKISC KASGYSFTGYYIHWVKQGPE KSLEWIGE IIPSTGSTIYNQKFK	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCR ASESVDIYGNSFMHWYQQKPGQ PPKLLIYRASNL ESGIPARFSGSGS

Clón	VH	VL
	AKATLTVDKSSSTAYLQLKSL TSEDSAVYYCERWGDYYGRD YWGQGTSVTVSS [SEQ ID NO:85] CDR1: GYSFTGY [SEQ ID NO:87] CDR2: IPSTGS [SEQ ID NO:88] CDR3: WGDYYGRDY [SEQ ID NO:89]	RTDFTLTINPVEADDDVATYYCQQ SNEDPRTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO:90] CDR1: RASESVDIYGNSFMH [SEQ ID NO:91] CDR2: RASNLES [SEQ ID NO:92] CDR3: QQSNEPRT [SEQ ID NO:93]
11F4.B9 humanizado (mutaciones inversas subrayadas)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYSTGYIHWVRQGP GQGLEWMGEIIPSTGSTIYAQK FQGRVTMTRDTSTSTVYMELS SLRSEDTAVYYCERWGDYYG RDYWGQGTSLTVSS [SEQ ID NO:14] CDR1: GYSFTGY [SEQ ID NO:87] CDR2: IPSTGS [SEQ ID NO:88] CDR3: WGDYYGRDY [SEQ ID NO:89]	DIVMTQSPASLAVSLGERATINC RASESVDIYGNSFMHWYQQKPG QPPKLLIYRASNLSEGVDFRSGS GSRTDFTLTINSLQAEDVATYYC QQSNEPRTFGGGTKVEIK [SEQ ID NO:94] CDR1: RASESVDIYGNSFMH [SEQ ID NO:91] CDR2: RASNLES [SEQ ID NO:92] CDR3: QQSNEPRT [SEQ ID NO:93]
4A4.A3	QVTLESGPGILQPSQTLSTC SFGSLTTYGMGVGWIRQPS GKGLEWLANIWFNDNKYYNS TLKSRLTISKDTSNNQVFLKIS SVDTTDTATYYCAQITTVGT FDYWGQGSPLTVSP [SEQ ID NO:95] CDR1: GFSLTTYGM [SEQ ID NO:97] CDR2: WFNDN [SEQ ID NO:99] CDR3: ITTVVGTFDY [SEQ ID NO:100]	RIVMTQSPTTMAASPGEKITITCS ASSISSIYLHWYQQKPGFSPKLL IFRTSDLASGVPPRFGGSGGTSY SLTIGTMEAEDVATYYCQQGSSF PRTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO:96] CDR1: SASSISSIYLH [SEQ ID NO:101] CDR2: RTSDLAS [SEQ ID NO:102] CDR3: QQGSSFPRT [SEQ ID NO:103]
4A4.H7	EVQLQESGPGLVKPGASVKISC KASGYSTGYIHWVKQSPEE SLEWIGEIPNTGITYNQKFT AKATLTVDKSSNTAYMQLKS	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCR ASETVDTHGNSFMHWYQQKPG QPPKLLIYRASNLSEVIPARFSGS

Clón	VH	VL
	LTSEDSAVYYCTRWGDYYGR DYWGQGTSVTVSS [SEQ ID NO:104] CDR1: GYSFTGY [SEQ ID NO:87] CDR2: YPNTGI [SEQ ID NO:98] CDR3: WGDYYGRDY [SEQ ID NO:89]	GSRTDFTLTINPVEADDVATYYC QQSNEPRTFTGGGTTKLEIK [SEQ ID NO:105] CDR1: RASETVDTHGNSFMH [SEQ ID NO:106] CDR2: RASNLES [SEQ ID NO:92] CDR3: QQSNEPRT [SEQ ID NO:93]
15A11.C8	EVQLQESGGGLVKTGGSRKLS CAASGFTFSDYGMHWVRHTP EGGLEWVVYISSGGNTIFYTD TVKGRFTISRDNKNTLFLQM TSLRSEDVAVYFCVRQGYYYA MDYWGQGASVTVSS [SEQ ID NO:107] CDR1: GFTFSDY [SEQ ID NO:109] CDR2: SSGGNT [SEQ ID NO:110] CDR3: QGYYYAMDY [SEQ ID NO:111]	DIQMTQTTSSLSASLGDRVTIRCR ASQDITNYLNWYQQKPDGAVKL LISYTSILQSGVPSRFGSGSGTD YSLTISNLEQGDVATYFCQQGSS LPWTFGGGTTKLEIK [SEQ ID NO:108] CDR1: RASQDITNYLN [SEQ ID NO:112] CDR2: YTSILQS [SEQ ID NO:113] CDR3: QQGSSLPWT [SEQ ID NO:114]
12C9.E5	EVQLQESGAELVRPGASVKLS CKASGYIFTDYEIHWVKQTPV HGLEWIGAIIDPETGITAYSQKF KGKATLTDTSSSTAYMEFRS LTSEDSAVYYCTRGGLLYWG QGTSVTVSS [SEQ ID NO:115] CDR1: GYIFTDY [SEQ ID NO:117] CDR2: DPETGI [SEQ ID NO:118] CDR3: GGLLY [SEQ ID NO:119]	DVVMTQTPLSLSVTIGQPASISCK SSQSLLYSDGETYLNWLQQRPG QSPKRLMYQVSKLDPGIPDRFSG SGSETDFTLKISRVEAEDLGIYYC LQGTFYPHTFTGGGTTKLEIK [SEQ ID NO:116] CDR1: KSSQSLLYSDGETYLN [SEQ ID NO:120] CDR2: QVSKLDP [SEQ ID NO:121] CDR3: LQGTFYPHT [SEQ ID NO:122]
1A2.A3	EVQLQESGPELVKPGASVKISC KASGYSTGYIHWVKQSPEE SLEWIGEIPNTGITTYNQKFT AKATLTVDKSSNTAYMQLKS	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCR ASETVDTHGNSFMHWYQQKPG QPPKLLIYRASNLESGIPARFSGS GSRTDFTLTINPVEADDVATYYC QQSNEPRTFTGGGTTKLEIK

Clón	VH	VL
	LTSEDSAVYYCTRWGDYYGR DYWGQGTSTVTVSS [SEQ ID NO:123] CDR1: GYSFTGY [SEQ ID NO:87] CDR2: YPNTGI [SEQ ID NO:98] CDR3: WGDYYGRDY [SEQ ID NO:89]	[SEQ ID NO:124] CDR1: RASETVDTHGNSFMH [SEQ ID NO:106] CDR2: RASNLES [SEQ ID NO:92] CDR3: QQSNEPRT [SEQ ID NO:93]
4H2.E3	EVQLQESGPELVKPGASVKMS CKASGYTFTSYLMHWMKQKP GQGLEWIGYINPYSDGIKYNE KFRDKATLTSDKSSNTAYMEL SSLTSEDSAVYYCAHSSGYVG YAMDYWGQGTSTVTVSS [SEQ ID NO:125] CDR1: GYTFTSY [SEQ ID NO:62] CDR2: NPYSDG [SEQ ID NO:33] CDR3: SSGYVG YAMDY [SEQ ID NO:127]	GIVMTQTTPSPVPTPGESVSISCR SSKSLLHSNGNTYLYWFLQRPQG SPQLLIYRMSNLA SGVPDRFSGS GSGTFTLRISRVEAEDVGVYYC MQHLEYPFTFGSGTKLEIK [SEQ ID NO:126] CDR1: RSSKSLLHSNGNTYLY [SEQ ID NO:128] CDR2: RMSNLAS [SEQ ID NO:129] CDR3: MQHLEYPFT [SEQ ID NO:130]
14H8.E7	EVQLQESGAELVKPGASVKLS CKASGYTFTNYWINWLKQRP GQGLEWIGNIYPGSTIINYNEK FKNKATLTVDTSSTAYMQLS SLTSDDSAVYYCARRVVYLYF DSWGQGTTLTVSS [SEQ ID NO:131] CDR1: GYTFTNY [SEQ ID NO:132] CDR2: YPGSTI [SEQ ID NO:133] CDR3: RVVYLYFDS [SEQ ID NO:134]	QIVLTQSPAIMASAPGEKVTMTC SASSSVSYMHWYQQKSGTSPKR WIFDTSKLASGVPVRFSGSGSGT SYSLTITNMETEDAATYYCQQW SSKSPTFGGGTKLEIK [SEQ ID NO:83] CDR1: SASSSVSYM [SEQ ID NO:65] CDR2: DTSKLA [SEQ ID NO:66] CDR3: QQWSSKSPT [SEQ ID NO:46]

[0137] Alternativamente, los nuevos sitios de unión a antígenos que pueden unirse a FLT3 pueden identificarse mediante el cribado de la unión a la secuencia de aminoácidos definida por SEQ ID NO: 135, un fragmento extracelular maduro de la misma o un fragmento que contiene un dominio de FLT3 (véase, por ejemplo, la Publicación de Solicitud Internacional No. WO 2018/220584).

SEQ ID NO: 135 (dominio extracelular FLT3 humano maduro)

NQDLPIKCVLINHKNNDSVKGSSSYPMVSESPEDLGALRPQSSGTVYEEAAVEV
 DVSASITLQVLVDAPGNISCLWVFKHSSLNCQPHFDLQNRGVVSMVILKMTETQAGE
 YLLFIQSEATNYTILFTVSIRNTLLYTLRRPYFRKMENQDALVCISESVPEPIVEWVLC
 DSQGESCKEESPAVVKKEEKVLHELFGTDIRCCARNELGRECTRLFTIDLNQTPQTTL
 PQLFLKVGEPWLIRCKAVHVNHGFGLTWELENKALEEGNYFEMSTYSTNRTMIRILF
 AFVSSVARNDTGYYTCSSSKHPSQSALVTIVEKGFINATNSSDYEDQYEEFCFSVRF
 KAYPQIRCTWTFSRKSFPCEQKGLDNGYSISKFCNHKHQPGEYIFHAENDDAQFTKM
 FTLNIRRKPVLAEEASASQASCFSDGYPLPSWTWKKCSDKSPNCTEEITEGVWNRKA
 NRKVFGQWVSSSTLNMSEAIKGFLVKCCAYNSLGTSCETILLNSPGPFPIQDNIS

[0138] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 (por ejemplo, FLT3 humano) comprende un dominio variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica al VH de un anticuerpo descrito en la tabla 2, y un dominio variable de cadena ligera (VL) de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente el 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o el 100%) idéntica al VH del mismo anticuerpo descrito en la Tabla 2. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión a antígeno comprende las cadenas pesadas CDR1, CDR2 y CDR3 y las cadenas ligeras CDR1, CDR2 y CDR3, determinadas bajo Kabat (véase Kabat et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Publicación NIH No. 91-3242, Bethesda), Chotia (véase, por ejemplo, Chothia C & Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196: 901-917), MacCallum (véase MacCallum RM, (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 el Tabla 2. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada y CDR1, CDR2, y CDR3 de cadena ligera de un anticuerpo descrito en la Tabla 2.

[0139] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con 12H10.G7. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 2. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 11, 4 y 5, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 6, 7 y 8, respectivamente.

[0140] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con GB87 o GB95.

Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90% (por ejemplo, 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: 9, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90% (por ejemplo, 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 SEQ ID NO: 10. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 11, 4 y 5, respectivamente. En ciertas

modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o el 100%) idéntica a SEQ ID NO: 3 o 12

[0141] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con GB88 o GB96. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 10. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 11, 4 y 5, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90% (por ejemplo, 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 el 100%) idéntica a SEQ ID NO: 15 o 16

[0142] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con GB89 o GB97. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 10. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 11, 4 y 5, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o el 100%) idéntica a SEQ ID NO: 19 o 20

[0143] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con GB90 y GB98. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 22. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3

que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 11, 4 y 5, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o el 100%) idéntica a SEQ ID NO: 23 o 24

[0144] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con GB91 y GB99. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 26. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 11, 4 y 5, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente

94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%,
aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o el 100%) idéntica a SEQ ID NO: 27 o 28

[0145] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con GB92 o GB100. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 30. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 11, 4 y 5, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o el 100%) idéntica a SEQ ID NO: 31 o 32.

[0146] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con GB93 o GB101. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30.

96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 34. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 11, 4 y 5, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o el 100%) idéntica a SEQ ID NO: 35 o 36.

[0147] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con GB94 o GB102. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 38. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 11, 4 y 5, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo,

aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o el 100%) idéntica a SEQ ID NO: 39 o 40.

[0148] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con GB102 D101E. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 42. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 11, 4 y 5, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o el 100%) idéntica a SEQ ID NO: 43 o 44.

[0149] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con GB102 M34I. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos

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

[0150] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con GB102 M34I/D101E. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 42. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 11, 4 y 50, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 6,

7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o el 100%) idéntica a SEQ ID NO: 51 o 52

[0151] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con 12H10.G7 humanizado. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 42. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 11, 4 y 55, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 6, 7 y 8, respectivamente.

[0152] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con 12H10.G7 humanizado. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente

95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 57. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 11, 4 y 5, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 6, 7 y 8, respectivamente.

[0153] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con 12H10.G7 humanizado. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 58, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 42. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 11, 4 y 55, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 6, 7 y 8, respectivamente.

[0154] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con 14A5.E8. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente

97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 61. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 62, 63 y 64, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 65, 66 y 67, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 65, 66 y 67, respectivamente.

[0155] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con el mAb 1551 o 1552. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 69. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 62, 63 y 64, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 65, 66 y 67, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 65, 66 y 67, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de

aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o el 100%) idéntica a SEQ ID NO: 70 o 71

[0156] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con el mAb 1553 o 1554. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 73. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 62, 63 y 64, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 65, 66 y 67, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 65, 66 y 67, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o el 100%) idéntica a SEQ ID NO: 74 o 75

[0157] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con el mAb 1689. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO: 76, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 77. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 78, 63 y 79, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 80, 66 y 67, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 80, 66 y 67, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, en el que el scFv comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o el 100%) idéntica a SEQ ID NO: 81 o 82

[0158] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con 14A5.E8 humanizado. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 84. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 59, 63 y 54, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 86, 66 y 67, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias

de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 86, 66 y 67, respectivamente.

[0159] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con 11F4.B9. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 90. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 87, 88 y 89, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 91, 92 y 93, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 91, 92 y 93, respectivamente.

[0160] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con 11F4.B9 humanizado. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 94. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las

SEQ ID NOs: 87, 88 y 89, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 91, 92 y 93, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 91, 92 y 93, respectivamente.

[0161] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con 4A4.A3. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 96. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 97, 99 y 100, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 101, 102 y 103, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 101, 102 y 103, respectivamente.

[0162] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con 4A4.H7. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%,

aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 105. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 87, 98 y 89, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 106, 92 y 93, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 106, 92 y 93, respectivamente.

[0163] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con 15A11.C8. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 107, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 108. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 109, 110 y 111, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 112, 113 y 114, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 112, 113 y 114, respectivamente.

[0164] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con 12C9.E5. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%,

aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 116. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 117, 118 y 119, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 120, 121 y 122, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 120, 121 y 122, respectivamente.

[0165] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con 1A2.A3. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 124. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 87, 98, 89, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 106, 92, 93, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 87, 98, 89, respectivamente; y (b) una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 106, 92, 93, respectivamente.

[0166] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con 4H2.E3. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 126. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 62, 33 y 127, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 128, 129 y 130, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende (a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 128, 129 y 130, respectivamente.

[0167] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno está relacionado con 14H8.E7. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende una VH que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99%, o 100%) idéntica a SEQ ID NO: 83. En ciertas modalidades, la VH comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 132, 133 y 134, respectivamente. En ciertas modalidades, la VL comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 65, 66 y 46, respectivamente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno comprende

(a) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 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 NOs: 65, 66 y 46, respectivamente.

[0168] En cada una de las modalidades anteriores, se contempla aquí que las secuencias VH y/o VL que se unen juntas a FLT3 pueden contener alteraciones de aminoácidos (por ejemplo, aproximadamente 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 significativamente.

[0169] En ciertas modalidades, un segundo sitio de unión al antígeno descrito aquí se une a FLT3 (por ejemplo, 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 de superficie (SPR) (por ejemplo, usando el método descrito en el Ejemplo 1 infra) o por interferometría de biocapa (BLI), y/o une FLT3 de un fluido corporal, tejido y/o célula de un sujeto. En ciertas modalidades, cualquiera de los anticuerpos aislados anteriores tiene una K_d (es decir, fuera de tasa, también llamada K_{off}) igual o menor que 1×10^{-5} , 1×10^{-4} , 1×10^{-3} , 5×10^{-3} , 0.01, 0.02 o 0.05 1/s, medido por SPR (por ejemplo, usando el método descrito en el Ejemplo 1 infra) o por BLI.

[0170] En ciertas modalidades, un segundo sitio de unión a antígeno descrito aquí, por ejemplo, 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

NQDLPVIKCVLINHKNNDSSVGKSSSYPMVSESPEDLGICALRPQSSGTVYEAAAVEV
DVSASITLQVLVDAPGNISCLWVFKHSSLNCQPHFDLQNRGVVSMVILKMTETQAGE
YLLFIQSEATNYTILFTVSIRNTLLYTLRRPYFRKMENQDALVCISESVPEPIVEWVLC
DSQGESCKEESPAVVKKEEKVLHELFGMDIRCCARNELGRECTRLFTIDLNQTPQTTL
PQLFLKVGEPWLWIRCKAVHVNHGFGLTWELENKALEEGNYFEMSTYSTNRTMIRILF
AFVSSVARNDTGYYTCSSSKHPSQSALVTIVEKGFINATNSSEDYEIDQYEEFCFSVRF
KAYPQIRCTWTFSRKSFPCEQKGLDNGYSISKFCNHKHQPGEYIFHAENDDAQFTKM
FTLNIRRKPPQVLAEASASQASCFSDGYPLPSWTWKKCSDKSPNCTEEITEGVWNRKA

NRKVFGQWVSSSTLNMSEAIKGFLVKCCAYNSLGTSCETILLNSPGPFPIQDNIS
(SEQ ID NO:318).

[0171] En ciertas modalidades, un segundo sitio de unión a antígeno descrito aquí, por ejemplo, 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

NQDLPIKCVLINHKNNDSSVGKSSSYPMVSESPEDLGALRPQSSGTVYEAAAVEV
DVSASITLQVLVDAPGNISCLWVFKHSSLNCQPHFDLQNRGVVSMVILKMTETQAGE
YLLFIQSEATNYTILFTVSIRNTLLYTLRRPYFRKMENQDALVCISESVPEPIVEWVLC
DSQGESCKEESPAVVKKEEKVLHELFGTDIRCCARNELGRECTRLFTIDLNQTPQTTL
PQLFLKVGEPLWIRCKAVHVNHGFGLTWELENKALEEGNYFEMSTYSTNRTMIRILF
AFVSSVARNDTGYYTCSSSKHPSQSALVTIVEKGFINATNSSEDYEIDQYEEFCFSVRF
KAYPQIRCTWTFSRKSFPCEQKGLDNGYSISKFCNHKHQPGEYIFHAENDDAQFTKM
FTLNIRRKPVLAEASASQASCFSDGYPLPSWTWKKCSDKSPNCTEEITEGVWNRKA
NRKVFGQWVSSSTLNMSEAIKGFLVKCCAYNSLGTSCETILLNSPGPFPIQDNIS
(SEQ ID NO:319).

[0172] En ciertas modalidades, un segundo sitio de unión a antígeno descrito aquí, por ejemplo, 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, 11F4.B9, 4A4.A3, 4A4.H7, 15A11.C8, 1A2.A3, 4H2.E3 o 14H8.E7 humanizados descritos anteriormente, se une a FLT3 cynomolgus.

[0173] En ciertas modalidades, un segundo sitio de unión a antígeno descrito aquí, por ejemplo, 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, a humanized 12H10.G7, 14A5.E8, 1551, 1552, 1553, 1554, 1689, un 14A5.E8, 11F4.B9, 4A4.A3, 4A4.H7, 12C9.E5, 1A2.A3, 4H2.E3 o 14H8.E7 humanizados descritos anteriormente, no compiten con FLT3L por unirse a FLT3.

[0174] En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno compite por la unión a FLT3 (por ejemplo, FLT3 humano, FLT3 cynomolgus) con un sitio de unión al antígeno descrito anteriormente. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno compite con un sitio de unión al antígeno relacionado con 1A2.A3 descrito anteriormente para la unión a FLT3. En una modalidad, el segundo sitio de unión al antígeno compite con 1A2.A3 por la unión a FLT3. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno de la presente invención compite con un sitio de unión al antígeno relacionado con 4A4.A3 descrito anteriormente para la unión a FLT3. En una modalidad, el segundo sitio de unión al antígeno compite con 4A4.A3 por la unión a FLT3. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno de la presente invención compite con un sitio de unión al antígeno relacionado con 4H2.E3 descrito anteriormente para la unión a FLT3. En una modalidad, el segundo sitio de unión al antígeno compite con 4H2.E3 por la unión a FLT3. En ciertas modalidades, el segundo sitio de unión al antígeno de la presente invención compite con un sitio de unión al antígeno relacionado con 11F4.B9 descrito anteriormente para la unión a FLT3. En una modalidad, el segundo sitio de unión al antígeno compite con 11F4.B9 por la unión a FLT3.

Dominio Fc

[0175] 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 (véase, Sondermann, Nature, 406 (6793): 267-273). Basado en los dominios conocidos, las mutaciones se pueden seleccionar para mejorar o reducir la afinidad de unión a CD16, tal como mediante el uso de genotecas mostradas en fagos o genotecas de ADNc de superficie de levadura, o se pueden diseñar basándose en la estructura tridimensional conocida de la interacción. Por consiguiente, en cierta modalidad, el dominio Fc del anticuerpo o la porción del mismo comprende una bisagra y un dominio CH2.

[0176] El montaje de cadenas pesadas de anticuerpos heterodiméricos se puede lograr expresando dos secuencias de cadenas pesadas de anticuerpos diferentes en la misma célula, lo que puede conducir al montaje de homodímeros de cada cadena pesada de anticuerpo así como al montaje de heterodímeros. La promoción del montaje preferencial de heterodímeros se puede lograr incorporando diferentes mutaciones en el dominio CH3 de cada región constante de la cadena pesada del anticuerpo, como se muestra en los documentos

US13/494870, US16/028850, US11/533709, US12/875015, US13/289934, US14/773418, US12/811207, US13/866756, US14/647480 y US14/830336. Por ejemplo, se pueden realizar mutaciones en el dominio CH3 basadas en IgG1 humana e incorporando distintos pares de sustituciones de aminoácidos dentro de un primer polipéptido y un segundo polipéptido que permiten que estas dos cadenas se heterodimericen selectivamente entre sí. Las posiciones de las sustituciones de aminoácidos ilustradas a continuación están todas numeradas según el índice EU como en Kabat.

[0177] En un escenario, una sustitución de aminoácidos en el primer polipéptido reemplaza el aminoácido original con un aminoácido más grande, seleccionado entre arginina (R), fenilalanina (F), tirosina (Y) o triptófano (W), y en aproximadamente una sustitución de aminoácido en el segundo polipéptido reemplaza el aminoácido original con un aminoácido más pequeño, elegido entre alanina (A), serina (S), treonina (T) o valina (V), tal que la sustitución de aminoácidos más grandes (una protuberancia) encaja en la superficie de las sustituciones de aminoácidos más pequeñas (una cavidad). Por ejemplo, un polipéptido puede incorporar una sustitución de T366W y el otro puede incorporar tres sustituciones que incluyen T366S, L368A e Y407V.

[0178] Un dominio variable de cadena pesada de anticuerpo de la invención se puede acoplar opcionalmente a una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% idéntica a una región constante de anticuerpo, como una región constante de IgG que incluye dominios bisagra, CH2 y CH3 con o sin dominio CH1. En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de la región constante es aproximadamente un 90% idéntica a una región constante de anticuerpo humano, tal como una región constante de IgG1 humana, una región constante de IgG2, una región constante de IgG3 o una región constante de IgG4. En una modalidad, el dominio Fc del anticuerpo o una porción del mismo suficiente para unirse a CD16 comprende una secuencia de aminoácidos aproximadamente 90% (por ejemplo, aproximadamente 91%, aproximadamente 92%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 95%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 98%, aproximadamente 99% o 100%) idéntica a la secuencia Fc de IgG1 humana de tipo salvaje

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
(SEQ ID NO:136). En algunas otras modalidades, la secuencia de aminoácidos de la región

constante es aproximadamente 90 % idéntica a la región constante de anticuerpo de otro mamífero, tal como conejo, perro, gato, ratón o caballo.

[0179] En algunas modalidades, el dominio constante del anticuerpo unido al scFv o al fragmento Fab puede unirse a CD16. En algunas modalidades, la proteína incorpora una porción de un dominio Fc de anticuerpo (por ejemplo, una porción de un dominio Fc de anticuerpo suficiente para unirse a CD16), en donde el dominio Fc de anticuerpo comprende una bisagra y un dominio CH2 (por ejemplo, una bisagra y un dominio CH2 de un anticuerpo IgG1 humano) y/o secuencias de aminoácidos aproximadamente 90% idénticas a la secuencia de aminoácidos 234-332 de un anticuerpo IgG humano.

[0180] 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, K409R, T411D, T411E, K439D, y K439E.

[0181] En ciertas modalidades, las mutaciones que se pueden incorporar 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 ciertas modalidades, las mutaciones que se pueden incorporar en la C κ de una región constante de IgG1 humana pueden estar en el aminoácido E123, F116, S176, V163, S174 y/o T164.

[0182] Alternativamente, las sustituciones de aminoácidos se podrían seleccionar de los siguientes conjuntos de sustituciones que se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3		
	Primer Polipéptido	Segundo Polipéptido
Conjunto 1	S364E/F405A	Y349K/T394F
Conjunto 2	S364H/D401K	Y349T/T411E
Conjunto 3	S364H/T394F	Y349T/F405A
Conjunto 4	S364E/T394F	Y349K/F405A

Conjunto 5	S364E/T411E	Y349K/D401K
Conjunto 6	S364D/T394F	Y349K/F405A
Conjunto 7	S364H/F405A	Y349T/T394F
Conjunto 8	S364K/E357Q	L368D/K370S
Conjunto 9	L368D/K370S	S364K
Conjunto 10	L368E/K370S	S364K
Conjunto 11	K360E/Q362E	D401K
Conjunto 12	L368D/K370S	S364K/E357L
Conjunto 13	K370S	S364K/E357Q
Conjunto 14	F405L	K409R
Conjunto 15	K409R	F405L

[0183] Alternativamente, las sustituciones de aminoácidos se podrían seleccionar de los siguientes conjuntos de sustituciones que se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4		
	Primer Polipéptido	Segundo Polipéptido
Conjunto 1	K409W	D399V/F405T
Conjunto 2	Y349S	E357W
Conjunto 3	K360E	Q347R
Conjunto 4	K360E/K409W	Q347R/D399V/F405T
Conjunto 5	Q347E/K360E/K409W	Q347R/D399V/F405T
Conjunto 6	Y349S/K409W	E357W/D399V/F405T

[0184] Alternativamente, las sustituciones de aminoácidos se podrían seleccionar de los siguientes conjuntos de sustituciones que se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5		
	Primer Polipéptido	Segundo Polipéptido

Conjunto 1	T366K/L351K	L351D/L368E
Conjunto 2	T366K/L351K	L351D/Y349E
Conjunto 3	T366K/L351K	L351D/Y349D
Conjunto 4	T366K/L351K	L351D/Y349E/L368E
Conjunto 5	T366K/L351K	L351D/Y349D/L368E
Conjunto 6	E356K/D399K	K392D/K409D

[0185] Alternativamente, aproximadamente una sustitución de aminoácidos en cada cadena polipeptídica podría seleccionarse de la Tabla 6

Tabla 6	
Primer Polipéptido	Segundo Polipéptido
L351Y, D399R, D399K, S400K, S400R, Y407A, Y407I, Y407V	T366V, T366I, T366L, T366M, N390D, N390E, K392L, K392M, K392V, K392F K392D, K392E, K409F, K409W, T411D y T411E

[0186] Alternativamente, aproximadamente una sustitución de aminoácido podría seleccionarse de los siguientes conjuntos de sustituciones en la Tabla 7, donde la posición o posiciones indicadas en la columna del Primer Polipéptido se reemplaza por cualquier aminoácido con carga negativa conocido, y la(s) posición(es) indicada(s) en la Columna Segundo Polipéptido se reemplaza por cualquier aminoácido con carga positiva conocido.

Tabla 7	
Primer Polipéptido	Segundo Polipéptido
K392, K370, K409, o K439	D399, E356, o E357

[0187] Alternativamente, podría seleccionarse aproximadamente una sustitución de aminoácido del siguiente conjunto en la Tabla 8, donde la posición o posiciones indicadas en la columna del Primer Polipéptido se reemplaza por cualquier aminoácido con carga positiva conocido, y la(s) posición(es) indicada(s) en la columna de Segundo Polipéptido se reemplaza por cualquier aminoácido con carga negativa conocido.

Tabla 8	
Primer Polipéptido	Segundo Polipéptido
D399, E356, o E357	K409, K439, K370, o K392

[0188] Alternativamente, las sustituciones de aminoácidos podrían seleccionarse de los siguientes conjuntos en la Tabla 9.

Tabla 9	
Primer Polipéptido	Segundo Polipéptido
T350V, L351Y, F405A, y Y407V	T350V, T366L, K392L, y T394W

[0189] Alternativamente, o además, la estabilidad estructural de una proteína hetero-multimérica puede aumentarse introduciendo S354C en la primera o segunda cadena polipeptídica, y Y349C en la cadena polipeptídica opuesta, que forma un puente disulfuro artificial dentro de la interfaz de los dos polipéptidos.

[0190] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante IgG1 en la posición T366, y en la que la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en T366, L368 e Y407

[0191] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en T366, L368 e Y407, y donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en la posición T366.

[0192] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en E357, K360, Q362, S364, L368, K370, T394, D401, F405 y T411 y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones

seleccionadas del grupo que consiste en Y349, E357, S364, L368, K370, T394, D401, F405 y T411.

[0193] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en Y349, E357, S364, L368, K370, T394, D401, F405 y T411 y en el que la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo formado por E357, K360, Q362, S364, L368, K370, T394, D401, F405 y T411.

[0194] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en L351, D399, S400 e Y407 y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en T366, N390, K392, K409 y T411.

[0195] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en T366, N390, K392, K409 y T411 y en el que la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en L351, D399, S400 e Y407.

[0196] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en Q347, Y349, K360 y K409. y en el que la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en Q347, E357, D399 y F405.

[0197] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste

en Q347, E357, D399 y F405, y en el que la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en Y349, K360, Q347 y K409.

[0198] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en K370, K392, K409 y K439, y en el que la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en D356, E357 y D399.

[0199] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en D356, E357 y D399, y donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en K370, K392, K409 y K439.

[0200] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en L351, E356, T366 y D399, y en el que la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en Y349, L351, L368, K392 y K409.

[0201] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consta de Y349, L351, L368, K392 y K409, y en el que la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en L351, E356, T366 y D399.

[0202] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de

una región constante IgG1 por una sustitución S354C y en la que la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante de anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por una sustitución Y349C.

[0203] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante IgG1 por una sustitución Y349C y en la que la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por una sustitución S354C.

[0204] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por sustituciones de K360E y K409W y donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por las sustituciones Q347R, D399V y F405T.

[0205] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por sustituciones Q347R, D399V y F405T y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por sustituciones de K360E y K409W.

[0206] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante IgG1 por sustituciones T366W y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por sustituciones de T366S, T368A e Y407V.

[0207] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante IgG1 por sustituciones de T366S, T368A e Y407V y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por una sustitución T366W.

[0208] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por sustituciones T350V, L351Y, F405A e Y407V y en donde

la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por sustituciones T350V, T366L, K392L y T394W.

[0209] En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por sustituciones T350V, T366L, K392L e T394W y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por sustituciones T350V, L351Y, F405A y Y407V.

Proteínas de unión multiespecíficas ejemplares

[0210] A continuación, se enumeran ejemplos de TriNKET que comprenden un sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 y un sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D, cada uno unido a una región constante de anticuerpo, en donde las regiones constantes de anticuerpo incluyen mutaciones que permiten la heterodimerización de dos cadenas Fc. Las secuencias de CDR bajo Chothia están subrayadas. F3-GB102 tiene el formato F3, es decir, el sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 es un Fab, y el sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D es un scFv. Los otros TriNKET están en formato F3', es decir, el sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 es un scFv y el sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D es un Fab. En cada TriNKET, el scFv comprende la sustitución de Cys por los residuos de aminoácidos en la posición 100 de VL y la posición 44 de VH, facilitando así la formación de un puente disulfuro entre VH y VL del scFv.

[0211] La VH y VL del scFv se pueden conectar mediante un enlazador, por ejemplo, un enlazador peptídico. En ciertas modalidades, el enlazador peptídico es un enlazador flexible. Con respecto a la composición de aminoácidos del enlazador, los péptidos se seleccionan con propiedades que confieren flexibilidad, no interfieren con la estructura y función de los otros dominios de las proteínas de la presente invención y resisten la escisión de proteasas. Por ejemplo, los residuos de glicina y serina generalmente proporcionan resistencia a proteasas. En ciertas modalidades, la VL está enlazada N-terminal o C-terminal a la VH mediante un enlazador (GlyGlyGlyGlySer)₄ ((G₄S)₄) (SEQ ID NO: 137).

[0212] La longitud del enlazador (por ejemplo, enlazador flexible) puede ser "corta", por ejemplo, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 residuos de aminoácidos, o "larga", por ejemplo, aproximadamente 13 residuos de aminoácidos. En ciertas modalidades, el enlazador

es 10-50, 10-40, 10-30, 10-25, 10-20, 15-50, 15-40, 15-30, 15-25, 15-20, 20-50, 20-40, 20-30 o 20-25 residuos de aminoácidos de longitud.

[0213] En ciertas modalidades, el enlazador comprende o consiste en un (GS)_n (SEQ ID NO: 290), (GGS)_n (SEQ ID NO: 291), (GGGS)_n (SEQ ID NO: 292), (GGSG)_n (SEQ ID NO: 293), (GGSGG)_n (SEQ ID NO: 294) y (GGGGS)_n (SEQ ID NO: 295), en donde n es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20. En determinadas modalidades, el enlazador comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 137, SEQ ID NO: 201, SEQ ID NO: 202, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 103, SEQ ID NO: 104, SEQ ID NO: 83, SEQ ID NO: 84, SEQ ID NO: 150, SEQ ID NO: 152, y SEQ ID NO: 154, como se numera en la Tabla 10.

Tabla 10	
SEQ ID	Secuencia de aminoácidos
SEQ ID NO:296	GSGSGSGSGSGSGSGSGSGS
SEQ ID NO:297	GGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGS
SEQ ID NO:298	GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSG GGSGGGSGGGG
SEQ ID NO:299	GGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGG GSGGGSGGGSG
SEQ ID NO:300	GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
SEQ ID NO:301	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSGGGGSGGGG
SEQ ID NO:137	GGGGSGGGGSGGGGSGGGG
SEQ ID NO:302	GGGGSGGGGSGGGG
SEQ ID NO:303	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSGGGG
SEQ ID NO:304	GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGG SGGGGSGGGGSGG

[0214] En F3-GB102, el scFv de unión a NKG2D se une al extremo N-terminal de un Fc mediante un enlazador Ala-Ser. En los F3'-TriNKET, el scFv de unión a FLT3 se une al extremo N-terminal de un Fc mediante un enlazador Gly-Ser. El enlazador Ala-Ser o Gly-Ser se incluye en la secuencia de la región de la bisagra del codo para equilibrar la flexibilidad y la geometría óptima. En ciertas modalidades, se puede añadir una secuencia adicional Thr-Lys-Gly N-terminal o C-terminal a la secuencia Ala-Ser o Gly-Ser en la bisagra.

[0215] Como se usa aquí para describir estos TriNKET ejemplares, Fc incluye una bisagra de anticuerpo, CH2 y CH3. En cada ejemplo de TriNKET, el dominio Fc unido a un scFv comprende las mutaciones de Q347R, D399V y F405T, y el dominio Fc unido a un Fab comprende las mutaciones coincidentes K360E y K409W para formar un heterodímero. El dominio Fc unido al scFv incluye además una sustitución S354C en el dominio CH3, que forma un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en el Fc unido al Fab. Estas sustituciones están en negrita en las secuencias descritas en esta subsección.

[0216] Por ejemplo, un TriNKET de la presente descripción es F3'-GB102. F3'-GB102 incluye (a) una secuencia scFv de unión a FLT3 derivada de GB102 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D derivado de A49MI que incluye una porción de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1 y una porción de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB102 incluye tres polipéptidos como se establece a continuación.

GB102-VL-VH-Fc (SEQ ID NO:277)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSEFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNL
ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK
 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPY
NDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWRQLGSLDSWGQ
 GTTVTVSS
 GS
 DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY
 VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
 KTISKAKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
 YKTTTPPVLVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

A49MI-VH-CH1-Fc (SEQ ID NO:278)

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYI
 YYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAPIGAAAGWFDPWG
 QGTLVTVSS
 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
 QSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
 ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
 TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR
 EPQVCTLPSPRDELTENQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD
 GSFFLYSWLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

A49MI-VL-CL (SEQ ID NO:279)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSG
 VPSRFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGVSEFPRTFGGGTKVEIK
 RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT
 EQDSKDSYSTLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0217] GB102-VL-VH-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a FLT3 unido a un dominio Fc mediante una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc unido al scFv incluye sustituciones Q347R, D399V y F405T para heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se describe a continuación. El scFv (SEQ ID NO: 40) incluye un dominio variable de cadena pesada de GB102 conectado al extremo C-terminal de un dominio variable de cadena ligera de GB102 a través de un enlazador (G₄S)₄. Los dominios variables de cadena pesada y ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro entre C100 de VL y C44 de VH, como resultado de las sustituciones R100C y G44C en la VL y VH, respectivamente.

[0218] A49MI-VH-CH1-Fc representa la porción de cadena pesada del fragmento Fab, que comprende un dominio variable de cadena pesada (SEQ ID NO: 254) de A49MI de unión a NKG2D y un dominio CH1, conectado a un dominio Fc. El dominio Fc en A49MI-VH-CH1-Fc incluye una sustitución Y349C en el dominio CH3, que forma un enlace disulfuro con una sustitución S354C en el Fc en GB102-VL-VH-Fc. En A49MI-VH-CH1-Fc, el dominio Fc también incluye sustituciones de K360E y K409W para heterodimerización con Fc en GB102-VL-VH-Fc.

[0219] A49MI-VL-CL representa la porción de cadena ligera del fragmento Fab que comprende un dominio variable de cadena ligera de A49MI de unión a NKG2D (SEQ ID NO: 239) y un dominio constante de cadena ligera.

[0220] Otro TriNKET de la presente descripción es F3-GB102. F3-GB102 incluye (a) una secuencia scFv de unión a NKG2D derivada de A49 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a FLT3 derivado de GB102 que incluye una porción de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una porción de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en el que el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3-GB102 incluye tres polipéptidos como se expone a continuación.

A49-VL-VH-Fc (SEQ ID NO:280)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGVSEFRTFGCGTKVEIK
GGGGSGGGSGGGSGGGGS
EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKCLEWVSSISSSSSYI
YYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAPMGAAAGWFDPW
GQGTLLTVSS
AS

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPVVLVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

GB102-VH-CH1-Fc (SEQ ID NO:281)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQGLEWMGFINPY
NDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLDSWGQ
GTTVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL
QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAP
ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR
EPQVCTLPPSRDELTENQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS
GSFFLYSWLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

GB102-VL-CL (SEQ ID NO:282)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDITYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNL
ESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGGGKTKVEIK
RTVAAPSVMFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYAPREKVKQWVDNALQSGNSQESVT
EQDSKDSYSLSSLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0221] A49-VL-VH-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a NKG2D unido a un dominio Fc mediante una bisagra que comprende Ala-Ser. El dominio Fc unido al scFv incluye sustituciones Q347R, D399V y F405T para heterodimerización y una

sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en GB102-VH-CH1-Fc como se describe a continuación. El scFv (SEQ ID NO: 246) incluye un dominio variable de cadena pesada de A49 conectado al extremo C-terminal de un dominio variable de cadena ligera de A49 a través de un enlazador (G₄S)₄. Los dominios variables de cadena pesada y ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro entre C100 de VL y C44 de VH, como resultado de las sustituciones Q100C y G44C en la VL y VH, respectivamente.

[0222] GB102-VH-CH1-Fc representa la porción de cadena pesada del fragmento Fab, que comprende un dominio variable de cadena pesada (SEQ ID NO: 37) de GB102 de unión a FLT3 y un dominio CH1, conectado a un dominio Fc. El dominio Fc en GB102-VH-CH1-Fc incluye una sustitución Y349C en el dominio CH3, que forma un enlace disulfuro con una sustitución S354C en el Fc en A49-VL-VH-Fc. En GB102-VH-CH1-Fc, el dominio Fc también incluye sustituciones de K360E y K409W para heterodimerización con Fc en A49-VL-VH-Fc

[0223] GB102-VL-CL representa la porción de cadena ligera del fragmento Fab que comprende un dominio variable de cadena ligera de GB102 de unión a FLT3 (SEQ ID NO: 38) y un dominio constante de cadena ligera.

[0224] Otro TriNKET de la presente descripción es F3'-1553. F3'-1553 incluye (a) una secuencia scFv de unión a FLT3 derivada del mAb 1553 unido a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D derivado de A49MI que incluye una porción de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una porción de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-1553 incluye tres polipéptidos: 1553-VH-VL-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc, A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'-GB102. El polipéptido de 1553-VH-VL-Fc se expone a continuación.

1553-VH-VL-Fc (SEQ ID NO:283)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTFTSYWINWVRQAPGKCLEWMGNIYPGS
SIINYNENFKNRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRVVYLYFDYWGQG
 TLVTVSS
 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSVSYMHWYQKPGQAPRLLIYDTSKLASGIPA
 RFGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQWTSKSPTFGCGTKVEIK
 GS

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPPVLVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0225] 1553-VH-VL-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a FLT3 unido a un dominio Fc mediante una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc unido al scFv incluye sustituciones Q347R, D399V y F405T para heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se describe a continuación. El scFv (SEQ ID NO: 74) incluye un dominio variable de cadena pesada de 1553 conectado al N-terminal de un dominio variable de cadena ligera de 1553 mediante un enlazador (G₄S)₄. Los dominios variables de cadena pesada y ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro entre C100 de VL y C44 de VH, como resultado de las sustituciones G100C y G44C en la VL y VH, respectivamente.

[0226] Otro TriNKET de la presente descripción es F3'-1689. F3'-1689 incluye (a) una secuencia scFv de unión a FLT3 derivada del mAb 1689 unido a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D derivado de A49MI que incluye una porción de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una porción de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-1689 incluye tres polipéptidos: 1689-VH-VL-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc, A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'-GB102. El polipéptido de 1689-VH-VL-Fc se expone a continuación.

1689-VH-VL-Fc (SEQ ID NO:284)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTFFPYWINWVRQAPGKCLEWMGNIYPGS
SIINYNNENFKNRVTMTEDTSTDYAYMELSSLRSEDTAVYYCARRNVYLTFDYWGQG
TLVTVSS

GGGGSGGGSGGGSGGGGS

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYIH^{WY}QQKPGQAPRLLIYDTSK^{LA}SGIPA
RFGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWTSKSP^{TF}GC^{GT}KVEIK
GS

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPPVLVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0227] 1689-VH-VL-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a FLT3 unido a un dominio Fc mediante una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc unido al scFv incluye sustituciones Q347R, D399V y F405T para heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se describe a continuación. El scFv (SEQ ID NO: 81) comprende un conjunto de mutaciones relativas al scFv en 1553-VH-VL-Fc que potencialmente aumenta la afinidad de unión a FLT3.

[0228] Otro TriNKET de la presente descripción es F3'-GB102_M34I. F3'-GB102_M34I incluye (a) una secuencia scFv de unión a FLT3 derivada de GB102 M34I unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D derivado de A49MI que incluye una porción de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una porción de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB102_M34I incluye tres polipéptidos: GB102_M34I-VL-VH-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc, A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'-GB102. El polipéptido de GB102_M34I-VL-VH-Fc se expone a continuación.

GB102_M34I-VL-VH-Fc (SEQ ID NO:285)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDITYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNL
ESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCCTKVEIK
 GGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWMGFINPYN
DDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWRQLGSLDSWGQG
 TTVTVSS
 GS

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
 VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
 KTISKAKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
 YKTTTPVLVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0229] GB102_M34I-VL-VH-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a FLT3 unido a un dominio Fc mediante una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc unido al scFv incluye sustituciones Q347R, D399V y F405T para heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se describe a continuación. El scFv (SEQ ID NO: 48) comprende una

sustitución M34I con respecto a la VH en GB102-VL-VH-Fc para eliminar una posible secuencia secuencial.

[0230] Otro TriNKET de la presente descripción es F3'-GB102_D101E. F3'-GB102_D101E incluye (a) una secuencia scFv de unión a FLT3 derivada de GB102 D101E unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D derivado de A49MI que incluye una porción de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una porción de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB102_D101E incluye tres polipéptidos: GB102_D101E-VL-VH-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc, A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'-GB102. El polipéptido de GB102_D101E-VL-VH-Fc se expone a continuación.

GB102_D101E-VL-VH-Fc (SEQ ID NO:286)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDITYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK
GGGGSGGGSGGGSGGGGS
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPY
NDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWRQLGSLESWGQ
GTTVTVSS
GS

DKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0231] GB102_D101E-VL-VH-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a FLT3 unido a un dominio Fc mediante una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc unido al scFv incluye sustituciones Q347R, D399V y F405T para heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se describe a continuación. El scFv (SEQ ID NO: 44) comprende una sustitución D101E con respecto al VH en GB102-VL-VH-Fc para eliminar un posible riesgo de secuencia.

[0232] Otro TriNKET de la presente descripción es F3'-GB102_M34I_D101E. F3'-GB102_M34I_D101E incluye (a) una secuencia scFv de unión a FLT3 derivada de GB102 M34I/D101E unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D derivado de A49MI que incluye una porción de cadena pesada que comprende un dominio variable de

cadena pesada y un dominio CH1 y una porción de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en el que el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB102_M34I_D101E incluye tres polipéptidos:

GB102_M34I_D101E-VL-VH-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc, A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'-GB102. El polipéptido de GB102_M34I_D101E-VL-VH-Fc se expone a continuación.

GB102_M34I_D101E-VL-VH-Fc (SEQ ID NO:287)

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNL
ESGVPDRFSGSGSGTDFLTISLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK
GGGGSGGGSGGGGSGGGGS
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWMGFNPYN
DDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLESWGQG
TTVTVSS
GS

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPVVLVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0233] GB102_M34I_D101E-VL-VH-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a FLT3 unido a un dominio Fc mediante una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc unido al scFv incluye sustituciones Q347R, D399V y F405T para heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se describe a continuación. El scFv (SEQ ID NO: 52) comprende sustituciones de M34I y D101E con respecto a la VH en GB102-VL-VH-Fc para eliminar posibles problemas de secuencia.

[0234] Otro TriNKET de la presente descripción es F3'-GB99. F3'-GB99 incluye (a) una secuencia scFv de unión a FLT3 derivada de GB99 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D derivado de A49MI que incluye una porción de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1 y una porción de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB99 incluye tres polipéptidos: GB99-VL-VH-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc, A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'-GB102. El polipéptido de GB99-VL-VH-Fc se expone a continuación.

GB99-VL-VH-Fc (SEQ ID NO:288)

DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNL
ESGVPDRFSGSGGTDFLTTISSLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK
 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
 QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPY
NDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDAVYHCARWRQLGSLDSWGQ
 GTTVTVSS
 GS
 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
 VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
 KTISKAKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
 YKTTTPVLVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0235] GB99-VL-VH-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a FLT3 unido a un dominio Fc mediante una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc unido al scFv incluye sustituciones Q347R, D399V y F405T para heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se describe a continuación. El scFv (SEQ ID NO: 28) comprende un conjunto de mutaciones inversas en las regiones marco en relación con el scFv en GB102-VL-VH-Fc para mejorar potencialmente la estructura y la actividad del anticuerpo.

[0236] Otro TriNKET de la presente descripción es F3'-GB89. F3'-GB89 incluye (a) una secuencia scFv de unión a FLT3 derivada de GB89 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D derivado de A49MI que incluye una porción de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1 y una porción de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB89 incluye tres polipéptidos: GB89-VH-VL-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc, A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'-GB102. El polipéptido de GB89-VH-VL-Fc se expone a continuación.

GB89-VH-VL-Fc (SEQ ID NO:289)

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPY
NDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDAVYYCARWRQLGSLDSWGQ
 GTTVTVSS
 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
 DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNL
ESGVPDRFSGSGSRTDFLTTISSLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK
 GS

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPVLVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0237] GB89-VH-VL-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a FLT3 unida a un dominio Fc a través de una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc unido al scFv incluye sustituciones Q347R, D399V y F405T para heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se describe a continuación. El scFv (SEQ ID NO: 19) incluye un dominio variable de cadena pesada de GB89 conectado al N-terminal de un dominio variable de cadena ligera de GB89 a través de un enlazador (G₄S)₄. Los dominios variables de cadena pesada y ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro entre C100 de VL y C44 de VH, como resultado de las sustituciones R100C y G44C en la VL y VH, respectivamente. El scFv también comprende un conjunto de mutaciones inversas en las regiones marco relativas a VH y VL de GB102-VL-VH-Fc para mejorar potencialmente la estructura y la actividad del anticuerpo.

[0238] En una determinada modalidad, un TriNKET de la presente descripción es idéntico a uno de los TriNKET ejemplares descritos anteriormente que incluye las mutaciones Fc de EW-RVT, excepto que el dominio Fc unido al fragmento Fab de unión a NKG2D comprende las sustituciones de Q347R, D399V y F405T, y el dominio Fc unido al scFv de unión a HER2 comprende las sustituciones coincidentes K360E y K409W para formar un heterodímero. En ciertas modalidades, un TriNKET de la presente descripción es idéntico a uno de los TriNKET ejemplares descritos anteriormente que incluye las mutaciones KiH Fc, excepto que el dominio Fc unido al fragmento Fab de unión a NKG2D comprende las sustituciones en "agujeros" de T366S, L368A e Y407V, y el dominio Fc unido al scFv de unión a HER2 comprende la sustitución de "botón" de T366W para formar un heterodímero.

[0239] En ciertas modalidades, un TriNKET de la presente descripción es idéntico a uno de los TriNKET ejemplares descritos anteriormente, excepto que el dominio Fc unido al fragmento Fab de unión a NKG2D incluye una sustitución S354C en el dominio CH3 y el dominio Fc unido al scFv de unión a HER2 incluye una sustitución Y349C coincidente en el dominio CH3 para formar un enlace disulfuro

[0240] Una persona experta en la técnica apreciará que durante la producción y/o almacenamiento de proteínas, el glutamato (E) o la glutamina (Q) N-terminal pueden ciclarse

para formar una lactama (por ejemplo, espontáneamente o catalizada por una enzima presente durante la producción y/o almacenamiento). Por consiguiente, en algunas modalidades en las que el residuo N-terminal de una secuencia de aminoácidos de un polipéptido es E o Q, también se contempla aquí una secuencia de aminoácidos correspondiente con la E o Q reemplazada con piroglutamato.

[0241] Un experto en la técnica también apreciará que durante la producción y/o almacenamiento de proteínas, la lisina C-terminal (K) de una proteína se puede eliminar (por ejemplo, espontáneamente o catalizada por una enzima presente durante la producción y/o almacenamiento). Tal eliminación de K se observa a menudo con proteínas que comprenden un dominio Fc en su extremo C-terminal. Por consiguiente, en algunas modalidades en las que el residuo C-terminal de una secuencia de aminoácidos de un polipéptido (por ejemplo, una secuencia de dominio Fc) es K, también se contempla aquí una secuencia de aminoácidos correspondiente con el K eliminado.

[0242] Las proteínas multiespecíficas descritas anteriormente se pueden preparar usando tecnología de ADN recombinante bien conocida por un experto en la técnica. Por ejemplo, una primera secuencia de ácido nucleico que codifica la primera cadena pesada de inmunoglobulina puede clonarse 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 cadena ligera de inmunoglobulina se puede clonar en un tercer vector de expresión; y los vectores de expresión primero, segundo y tercero se pueden transfectar juntos de forma estable en células huésped para producir las proteínas multiméricas.

[0243] Para lograr el mayor rendimiento de la proteína multiespecífica, pueden explorarse diferentes proporciones del primer, segundo y tercer vector de expresión 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.

[0244] Los clones se pueden cultivar en condiciones adecuadas para el aumento a escala del bio-reactor y la expresión mantenida de la proteína multiespecífica. Las proteínas multiespecíficas pueden aislarse y purificarse utilizando 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.

II. CARACTERÍSTICAS DE LAS PROTEÍNAS MULTIESPECÍFICAS

[0245] Las proteínas multi-específicas descritas aquí incluyen un sitio de unión a NKG2D, un sitio de unión a FLT3 que se une a FLT3 y un dominio Fc de anticuerpo o una porción del mismo suficiente para unirse a CD16, o un sitio de unión a antígeno que se une a CD16. En algunas modalidades, las proteínas multiespecíficas contienen un sitio de unión al antígeno adicional que se une a FLT3, como se ejemplifica en el formato F4-TriNKET

[0246] En algunas modalidades, las proteínas multiespecíficas muestran una estabilidad térmica similar al anticuerpo monoclonal correspondiente, es decir, un anticuerpo monoclonal que contiene el mismo sitio de unión a FLT3 que el incorporado en las proteínas multiespecíficas

[0247] En algunas modalidades, las proteínas multiespecíficas se unen simultáneamente a células que expresan NKG2D y/o CD16, tales como células NK, y células que expresan FLT3, tales como ciertas células tumorales. La unión de las proteínas multiespecíficas a las células NK puede mejorar la actividad de las células NK hacia la destrucción de las células tumorales que expresan FLT3.

[0248] En algunas modalidades, las proteínas multiespecíficas se unen a FLT3 con una afinidad similar al correspondiente anticuerpo monoclonal anti-FLT3 (es decir, un anticuerpo monoclonal que contiene el mismo sitio de unión a FLT3 que el incorporado en las proteínas multiespecíficas). En algunas modalidades, las proteínas multiespecíficas son más eficaces para matar las células tumorales que expresan FLT3 que los correspondientes anticuerpos monoclonales.

[0249] En ciertas modalidades, las proteínas multiespecíficas descritas aquí, que incluyen un sitio de unión para FLT3, activan células NK humanas primarias cuando se cultivan conjuntamente con células que expresan FLT3. La activación de las células NK está marcada por el aumento de la desgranulación de CD107a y la producción de citocinas IFN- γ . Además, en comparación con un anticuerpo monoclonal anti-FLT3 correspondiente, las proteínas multiespecíficas pueden mostrar una activación superior de las células NK humanas en presencia de células que expresan FLT3.

[0250] En algunas modalidades, las proteínas multiespecíficas descritas aquí, que incluyen un sitio de unión para FLT3, mejoran la actividad de células NK humanas en reposo y activadas con IL-2 cuando se co-cultivan con células que expresan FLT3.

[0251] En algunas modalidades, en comparación con el anticuerpo monoclonal correspondiente que se une a FLT3, las proteínas multiespecíficas ofrecen una ventaja al dirigirse a células tumorales que expresan niveles medios y bajos de FLT3.

[0252] En algunas modalidades, el formato F4 bivalente de los TriNKET (es decir, los TriNKET incluyen un sitio de unión al antígeno adicional que se une a FLT3) mejora la avidéz con la que los TriNKET se unen a FLT3, que en efecto estabilizan la expresión y el mantenimiento de niveles altos de FLT3 en la superficie de las células tumorales. En algunas modalidades, los F4-TriNKET median una destrucción más potente de células tumorales que los correspondientes F3-TriNKET o F3'-TriNKET.

III. APLICACIONES TERAPÉUTICAS

[0253] La invención proporciona métodos para tratar enfermedades autoinmunes o cáncer usando una proteína de unión multiespecífica descrita aquí y/o una composición farmacéutica descrita aquí. Los métodos pueden usarse para tratar una variedad de cánceres que expresan FLT3.

[0254] El método terapéutico se puede caracterizar según el cáncer a tratar. Por ejemplo, en ciertas modalidades, el cáncer es una neoplasia maligna hematológica o leucemia. En ciertas modalidades, el cáncer es leucemia mieloide aguda (AML), leucemia linfoblástica aguda (ALL), mielodisplasia, síndromes mielodisplásicos, leucemia linfoblástica T aguda o leucemia promielocítica aguda, leucemia mielomonocítica crónica o crisis de leucemia mieloide blástica crónica de la leucemia mieloide crónica.

[0255] Otros cánceres ejemplares para ser tratados por las proteínas de unión multi-específicas dirigidas a FLT3 incluyen cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de esófago, cáncer de vejiga o gástrico, carcinoma del conducto salival, carcinoma del conducto salival, adenocarcinoma del pulmón o formas agresivas de cáncer de útero, tal como el carcinoma endometrial seroso uterino. En algunas otras modalidades, el cáncer es cáncer de cerebro, 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 recto, cáncer de riñón, cáncer de estómago, cáncer de testículo o cáncer de útero. En otras modalidades más, el cáncer es un carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, carcinoma de células pequeñas, melanoma, neuroblastoma, sarcoma (por ejemplo, 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 del canal anal, cáncer anal, cáncer ano-recto, tumor astrocítico, carcinoma de glándula de Bartolino, carcinoma de células basales, cáncer biliar, cáncer óseo, cáncer de médula ósea, cáncer bronquial, carcinoma de glándulas bronquiales, carcinoide, colangiocarcinoma, chondrosarcoma, papiloma/carcinoma del plexo coroideo, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide crónica, carcinoma de células claras, cáncer del 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 endometrial, cáncer de células endoteliales, cáncer 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 gástrico, gastrinoma, glioblastoma, glucagonoma, cáncer de corazón, hemangiblastomas hemangioendotelioma, hemangiomas, adenoma hepático, adenomatosis hepática, cáncer hepatobiliar, carcinoma hepatocelular, enfermedad de Hodgkin, cáncer de íleon, insulinooma, neoplasia intraepitelial, neoplasia interepitelial de células escamosas, cáncer de las vías biliares intrahepáticas, carcinoma invasivo de células escamosas, cáncer de yeyuno, cáncer de articulaciones, sarcoma de Kaposi, cáncer pélvico, carcinoma de células grandes, cáncer de intestino grueso, leiomiosarcoma, melanomas lentigo malignos, linfoma, cáncer genital masculino, melanoma maligno, tumores mesoteliales malignos, meduloblastoma, meduloepitelioma, cáncer meníngeo, cáncer mesotelial, carcinoma metastásico, cáncer de boca, carcinoma mucoepidermoide, mieloma múltiple, cáncer muscular, 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 oligodendroglioma, cáncer de la 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 tejidos blandos, 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 del cuerpo uterino, melanoma uveal, cáncer vaginal, carcinoma verrugoso, VIPoma, cáncer de vulva, carcinoma bien diferenciado o tumor de Wilms.

[0256] En algunas otras modalidades, el cáncer que se va a tratar es un linfoma no Hodgkin, tal como un linfoma de células B o un linfoma de células T. En ciertas 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 (CNS). En ciertas otras modalidades, el linfoma no Hodgkin es un linfoma de células T, tal como un linfoma linfoblástico T precursor, linfoma periférico de células T, linfoma cutáneo de células T, linfoma angioinmunoblástico de células T, linfoma de células T/células asesinas natural extranodales, linfoma de células T de tipo enteropatía, linfoma de células T tipo paniculitis subcutánea, linfoma anaplásico de células grandes o linfoma periférico de células T.

IV. TERAPIA DE COMBINACIÓN

[0257] Otro aspecto de la invención proporciona una terapia de combinación. Una proteína de unión multiespecífica descrita aquí se puede usar en combinación con agentes terapéuticos adicionales para tratar enfermedades autoinmunes o para tratar el cáncer.

[0258] Se describen agentes terapéuticos ejemplares que pueden usarse como parte de una terapia de combinación en el tratamiento de enfermedades inflamatorias autoinmunes en Li, (2017) Front. Pharmacol., 8: 460, e incluyen, por ejemplo, fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) (por ejemplo, inhibidores de COX-2), glucocorticoides (por ejemplo, prednisona/prednisolona, metilprednisolona y glucocorticoides fluorados como dexametasona y betametasona), fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (DMARDs) (por ejemplo, metotrexato, leflunomida, compuestos de oro, sulfasalazina, azatioprina, ciclofosfamida, antipalúdicos, D-penicilamina y ciclosporina), biológicos anti-TNF (por ejemplo, infliximab, etanercept, adalimumab, golimumab, certolizumab pegol y sus biosimilares) y otros productos biológicos que se dirigen a CTLA-4 (por ejemplo, abatacept), receptor de IL-6 (por ejemplo, tocilizumab), IL-1 (por ejemplo, anakinra), respuestas inmunitarias Th1 (IL-12/IL-23) (por ejemplo, ustekinumab), respuestas inmunitarias Th17 (IL-17) (por ejemplo, Secukinumab) y CD20 (por ejemplo, rituximab).

[0259] Los agentes terapéuticos ejemplares que pueden usarse como parte de una terapia de combinación para tratar el cáncer incluyen, por ejemplo, radiación, mitomicina, tretinoína, ribomustin, gemcitabina, vincristina, etopósido, cladribina, mitobronitol, metotrexato, doxorubicina, carbocina, pentostatina, nitracina, zinostatina, cetorelix, letrozol, raltitrexed, daunorubicina, fadrozol, fotemustina, timalfasina, sobuzoxano, nedaplatino, citarabina, bicalutamida, vinorelbina, vesnarinona, aminoglutetimida, amsacrina, proglumida, acetato de eliptinio, ketanserina, doxifluridina, etretinato, isotretinoína, estreptozocina, nimustina, vindesina, flutamida, drogenil, butocina, carmofur, razoxano, sizofilan, carboplatino, mitolactol, tegafur, ifosfamida, prednimustina, picibanil, levamisol, tenipósido, improsulfán, enocitabina, lisurida, oximetolona, tamoxifeno, progesterona, mepitiostano, epitioestanol, formestano, interferón alfa, interferón-2 alfa, interferón-beta, interferón-gamma (IFN- γ), factor estimulante de colonias 1, factor estimulante de colonias 2, denileucina difitox, interleucina-2, factor de liberación de hormona luteinizante y variaciones de los agentes antes mencionados que pueden exhibir una unión diferencial a su receptor afín, o una vida media sérica aumentada o disminuida.

[0260] Una clase adicional de agentes que pueden usarse como parte de una terapia de combinación 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) antígeno 4 asociado a linfocitos T citotóxicos (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.

[0261] Aún otros agentes que pueden usarse como parte de una terapia de combinación en el tratamiento del cáncer son agentes de anticuerpos monoclonales que se dirigen a objetivos que no son puntos de control (por ejemplo, herceptina) y agentes no citotóxicos (por ejemplo, inhibidores de tirosina-quinasa).

[0262] Aún 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, un Inhibidor de tirosina quinasa de Bruton, 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 de IDO, 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 fosfoinositido 3-quinasa, un inhibidor de PARP1 y DHODH, un inhibidor de Proteasoma, un inhibidor de Topoisomerasa-II, un inhibidor de tirosina quinasa, un inhibidor de VEGFR y un inhibidor de WEE1; (ii) un agonista de OX40, CD137, CD40, GITR, CD27, HVEM, TNFRSF25 o ICOS; y (iii) una citoquina seleccionada entre IL-12, IL-15, GM-CSF y G-CSF.

[0263] Las proteínas de la invención también se pueden usar como complemento de la extirpación quirúrgica de la lesión primaria.

[0264] La cantidad de proteína de unión multiespecífica y agente terapéutico adicional y el momento 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, se pueden administrar en cualquier orden, tal como, por ejemplo, secuencialmente, simultáneamente, juntos, simultáneamente y similares. Además, por ejemplo, se puede administrar una proteína de unión multiespecífica durante un tiempo en el que el o los agentes terapéuticos adicionales ejercen su efecto profiláctico o terapéutico, o viceversa.

V. COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

[0265] La presente descripción también presenta composiciones farmacéuticas que contienen una cantidad terapéuticamente efectiva de una proteína descrita aquí. 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 portadores fisiológicamente aceptables para una formulación adecuada. Las formulaciones adecuadas para su uso 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 para la administración de fármacos, véase, por ejemplo, Langer (Science 249: 1527 -1533, 1990).

[0266] La formulación de administración de fármacos por vía intravenosa de la presente descripción puede estar contenida en una bolsa, una pluma o una jeringa. En ciertas modalidades, la bolsa puede conectarse a un canal que comprende un tubo y/o una aguja. En ciertas modalidades, la formulación puede ser una formulación liofilizada o una formulación líquida. En ciertas modalidades, la formulación puede liofilizarse y estar contenida en aproximadamente 12-60 viales. En ciertas modalidades, la formulación se puede liofilizar y en un vial se pueden contener 45 mg de la formulación liofilizada. En ciertas modalidades,

los aproximadamente 40 mg-aproximadamente 100 mg de formulación liofilizada pueden estar contenidos en un vial. En ciertas 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. En ciertas modalidades, la formulación puede ser una formulación líquida y almacenarse desde aproximadamente 250 mg/vial hasta aproximadamente 1000 mg/vial. En ciertas modalidades, la formulación puede ser una formulación líquida y almacenarse como aproximadamente 600 mg/vial. En ciertas modalidades, la formulación puede ser una formulación líquida y almacenarse como aproximadamente 250 mg/vial.

[0267] La proteína podría existir en una formulación farmacéutica acuosa líquida que incluye una cantidad terapéuticamente efectiva de la proteína en una solución amortiguada que forma una formulación.

[0268] Estas composiciones se pueden esterilizar mediante técnicas de esterilización convencionales o se pueden esterilizar por filtración. Las soluciones acuosas resultantes pueden envasarse para su uso tal cual, o liofilizarse, combinándose la preparación liofilizada con un portador acuoso estéril antes de la administración. 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. Las composiciones resultantes en forma sólida se pueden empaquetar en múltiples unidades de dosis únicas, 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 en una cantidad flexible.

[0269] En ciertas modalidades, la presente descripción proporciona una formulación con una vida útil prolongada que incluye la proteína de la presente descripción, en combinación con manitol, ácido cítrico monohidratado, citrato de sodio, fosfato disódico dihidratado, dihidrogenofosfato de sodio dihidratado, cloruro de sodio, polisorbato 80, agua e hidróxido de sodio.

[0270] En ciertas modalidades, se prepara una formulación acuosa que incluye la proteína de la presente descripción en una solución amortiguada con pH. El amortiguador de esta invención puede tener un pH en el intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 8, por ejemplo, de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 6,0, o de aproximadamente 4,8 a aproximadamente 5,5, o puede tener un pH de aproximadamente 5.0 a aproximadamente 5.2. También se pretende que los rangos 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 citados anteriormente como límites superior y/o inferior. Ejemplos de amortiguadores que controlarán el pH dentro de este

intervalo incluyen acetato (por ejemplo, acetato de sodio), succinato (como succinato de sodio), gluconato, histidina, citrato y otros amortiguadores de ácidos orgánicos.

[0271] En ciertas modalidades, la formulación incluye un sistema amortiguador que contiene citrato y fosfato para mantener el pH en un rango de aproximadamente 4 a aproximadamente 8. En ciertas modalidades, el rango de pH puede ser de aproximadamente 4.5 a aproximadamente 6.0, o de aproximadamente pH 4.8 a aproximadamente 5.5, o en un intervalo de pH de aproximadamente 5.0 a aproximadamente 5.2. En ciertas modalidades, el sistema de amortiguador incluye ácido cítrico monohidratado, citrato de sodio, fosfato disódico dihidratado y/o dihidrogenofosfato de sodio dihidratado. En ciertas modalidades, el sistema amortiguador incluye aproximadamente 1,3 mg/ml de ácido cítrico (por ejemplo, 1,305 mg/ml), aproximadamente 0.3 mg/ml de citrato de sodio (por ejemplo, 0,305 mg/ml), aproximadamente 1,5 mg/ml de fosfato disódico dihidratado (por ejemplo, 1.53 mg/ml), aproximadamente 0,9 mg/ml de dihidrogenofosfato de sodio dihidratado (por ejemplo, 0.86 mg/ml) y aproximadamente 6.2 mg/ml de cloruro de sodio (por ejemplo, 6.165 mg/ml). En ciertas modalidades, el sistema amortiguador incluye aproximadamente 1 a aproximadamente 1.5 mg/ml de ácido cítrico, aproximadamente 0.25 a aproximadamente 0.5 mg/ml de citrato de sodio, aproximadamente 1.25 a aproximadamente 1.75 mg/ml de fosfato disódico dihidratado, aproximadamente 0.7 a aproximadamente 1.1 mg/ml de dihidrogenofosfato de sodio dihidratado y de aproximadamente 6.0 a aproximadamente 6.4 mg/ml de cloruro de sodio.

En ciertas modalidades, el pH de la formulación se ajusta con hidróxido de sodio.

[0272] 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 ciertas modalidades, la formulación acuosa puede ser isotónica. La cantidad de poliol añadido también puede modificarse con respecto al peso molecular del poliol. Por ejemplo, se puede añadir una cantidad menor de un monosacárido (por ejemplo, manitol), en comparación con un disacárido (tal como trehalosa). En determinadas modalidades, el poliol que se puede utilizar en la formulación como agente de tonicidad es manitol. En ciertas modalidades, la concentración de manitol puede ser de aproximadamente 5 a aproximadamente 20 mg/ml. En ciertas 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 ciertas modalidades, el sorbitol de poliol se puede incluir en la formulación.

[0273] También se puede añadir un detergente o tensioactivo a la formulación. Los detergentes ejemplares incluyen detergentes no iónicos tales como polisorbato (por ejemplo, polisorbato 20, 80, etc.) o poloxámeros (por ejemplo, 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 ciertas modalidades, la formulación puede incluir un tensioactivo que es un polisorbato. En ciertas modalidades, la formulación puede contener el detergente polisorbato 80 o Tween 80. Tween 80 es un término utilizado para describir el monooleato de polioxietileno de sorbitán (20) (véase Fiedler, *Lexikon der Hefststoffe*, Editio Cantor Verlag Aulendorf, 4ª ed., 1996). En ciertas 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 ciertas modalidades, se puede añadir a la formulación aproximadamente 0.1% de polisorbato 80.

[0274] En modalidades, el producto proteico de la presente descripción se formula como una formulación líquida. La formulación líquida puede presentarse en una concentración de 10 mg/ml en un vial USP/Ph Eur tipo I 50R cerrado con un tapón de goma y sellado con un cierre de precinto de aluminio. El tapón puede estar hecho de elastómero que cumpla con USP y Ph Eur. En ciertas modalidades, los viales se pueden llenar con 61,2 ml de la solución del producto proteico para permitir un volumen extraíble de 60 ml. En ciertas modalidades, la formulación líquida se puede diluir con solución salina al 0.9%.

[0275] En ciertas modalidades, la formulación líquida de la descripción se puede preparar como una solución de concentración de 10 mg/ml en combinación con un azúcar a niveles estabilizadores. En ciertas modalidades, la formulación líquida se puede preparar en un portador acuoso. En ciertas 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 ciertas modalidades, el azúcar puede ser disacáridos, por ejemplo, sacarosa. En ciertas modalidades, la formulación líquida también puede incluir uno o más de un agente amortiguador, un tensioactivo y un conservante.

[0276] En determinadas modalidades, el pH de la formulación líquida se puede establecer mediante la adición de un ácido y/o base farmacéuticamente aceptable. En ciertas modalidades, el ácido farmacéuticamente aceptable puede ser ácido clorhídrico. En determinadas modalidades, la base puede ser hidróxido de sodio.

[0277] Además de la agregación, la desamidación es una variante de producto común de péptidos y proteínas que puede ocurrir durante la fermentación, cosecha/clarificación celular, purificación, almacenamiento de sustancia farmacéutica/producto farmacéutico y durante el análisis de muestras. La desamidación es la pérdida de NH_3 de una proteína que forma un intermediario de succinimida que puede sufrir hidrólisis. El intermediario de succinimida da como resultado una disminución de masa de 17 dalton del péptido precursor. La hidrólisis posterior da como resultado un aumento de masa de 18 dalton. El aislamiento del intermediario 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 tasa 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.

[0278] En ciertas modalidades, la formulación líquida de la presente descripción se puede conservar en condiciones de pH y humedad para evitar la desaminación del producto proteico.

[0279] El portador acuoso de interés aquí es uno 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 portadores ilustrativos incluyen agua estéril para inyección (SWFI), agua bacteriostática para inyección (BWFI), una solución amortiguada de pH (por ejemplo, solución salina amortiguada con fosfato), solución salina estéril, solución de Ringer o solución de dextrosa.

[0280] Puede añadirse opcionalmente un conservante a las formulaciones de la presente memoria para reducir la acción bacteriana. La adición de un conservante puede, por ejemplo, facilitar la producción de una formulación de usos múltiples (dosis múltiples).

[0281] Las formulaciones intravenosas (IV) pueden ser la vía de administración preferida en casos particulares, como cuando un paciente está en el hospital después de un trasplante y recibe todos los fármacos a través de la vía IV. En ciertas modalidades, la formulación líquida se diluye con una solución de cloruro de sodio al 0.9% antes de la administración. En ciertas modalidades, el producto farmacéutico diluido para inyección es isotónico y adecuado para la administración mediante infusión intravenosa.

[0282] En ciertas modalidades, se pueden añadir una sal o componentes amortiguador en una cantidad de 10 mM - 200 mM. Las sales y/o amortiguadores son farmacéuticamente aceptables y se derivan de varios ácidos conocidos (inorgánicos y orgánicos) con metales o aminos "formadores de bases". En determinadas modalidades, el amortiguador puede ser un amortiguador de fosfato. En ciertas modalidades, el amortiguador puede ser amortiguadores de glicinato, carbonato, citrato, en cuyo caso, los iones sodio, potasio o amonio pueden servir como contraión.

[0283] Puede añadirse opcionalmente un conservante a las formulaciones de la presente memoria para reducir la acción bacteriana. La adición de un conservante puede, por ejemplo, facilitar la producción de una formulación de usos múltiples (dosis múltiples).

[0284] El portador acuoso de interés aquí es uno 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 portadores ilustrativos incluyen agua estéril para inyección (SWFI), agua bacteriostática para inyección (BWFI), una solución amortiguada de pH (por ejemplo, solución salina amortiguada con fosfato), solución salina estéril, solución de Ringer o solución de dextrosa.

[0285] La proteína de la presente descripción podría existir en una formulación liofilizada que incluye las proteínas y un lioprotector. El lioprotector puede ser azúcar, por ejemplo, disacáridos. En ciertas modalidades, el lioprotector puede ser sacarosa o maltosa. La formulación liofilizada también puede incluir uno o más de un agente amortiguador, un tensioactivo, un agente de carga y/o un conservante.

[0286] La cantidad de sacarosa o maltosa útil para la estabilización del producto farmacéutico liofilizado puede estar en una relación en peso de aproximadamente 1:2 de proteína a sacarosa o maltosa. En ciertas modalidades, la relación en peso de proteína a sacarosa o maltosa puede ser de 1:2 a 1:5.

[0287] En ciertas modalidades, el pH de la formulación, antes de la liofilización, puede establecerse mediante la adición de un ácido y/o base farmacéuticamente aceptable. En ciertas modalidades, el ácido farmacéuticamente aceptable puede ser ácido clorhídrico. En ciertas modalidades, la base farmacéuticamente aceptable puede ser hidróxido de sodio.

[0288] Antes de la liofilización, el pH de la solución que contiene la proteína de la presente descripción puede ajustarse entre 6 y 8. En ciertas modalidades, el intervalo de pH para el producto farmacéutico liofilizado puede ser de 7 a 8.

[0289] En ciertas modalidades, se pueden añadir una sal o componentes amortiguador en una cantidad de 10 mM - 200 mM. Las sales y/o amortiguadores son farmacéuticamente

aceptables y se derivan de varios ácidos conocidos (inorgánicos y orgánicos) con metales o aminas "formadores de bases". En determinadas modalidades, el amortiguador puede ser un amortiguador de fosfato. En ciertas modalidades, el amortiguador puede ser amortiguadores de glicinato, carbonato, citrato, en cuyo caso, los iones sodio, potasio o amonio pueden servir como contraión.

[0290] En ciertas modalidades, se puede añadir un "agente de carga". Un "agente de carga" es un compuesto que añade masa a una mezcla liofilizada y contribuye a la estructura física de la torta liofilizada (por ejemplo, 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.

[0291] Puede añadirse opcionalmente un conservante a las formulaciones de la presente memoria para reducir la acción bacteriana. La adición de un conservante puede, por ejemplo, facilitar la producción de una formulación de usos múltiples (dosis múltiples).

[0292] En determinadas modalidades, el producto farmacéutico liofilizado puede estar constituido por un portador acuoso. El portador acuoso de interés aquí es uno que es farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, 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 amortiguada de pH (por ejemplo, solución salina amortiguada con fosfato), solución salina estéril, solución de Ringer o solución de dextrosa.

[0293] En ciertas modalidades, el producto farmacéutico liofilizado de la descripción actual se reconstituye con agua estéril para inyección, USP (SWFI) o cloruro de sodio para inyección al 0.9%, USP. Durante la reconstitución, el polvo liofilizado se disuelve en una solución.

[0294] En ciertas modalidades, el producto proteico liofilizado de la presente descripción 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).

[0295] 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 resultar tóxico para el paciente.

[0296] 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 condición médica del paciente. Los expertos en la técnica realizan de forma rutinaria un refinamiento adicional de los cálculos necesarios para determinar la dosis apropiada para el tratamiento, especialmente en vista de la información de dosis y los ensayos descritos aquí. 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 del constructo o del complejo objetivo en un paciente para ver si es necesario ajustar la dosis para alcanzar o mantener una concentración efectiva. La farmacogenómica puede usarse para determinar qué constructos y/o complejos dirigibles, y las dosis de los mismos, tienen más probabilidades de ser efectivos para un individuo dado (Schmitz, *Clinica Chimica Acta* 308: 43-53, 2001; Steimer et al., *Clinica Chimica Acta* 308: 33-41, 2001).

[0297] En general, las dosis basadas en el peso corporal son de aproximadamente 0.01 µg a aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal, tal como de aproximadamente 0.01 µg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 0.01 µg a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 0.01 µg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 0.01 µg a aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 0.01 µg a aproximadamente 100 µg/kg de peso corporal, de aproximadamente 0.01 µg a aproximadamente 50 µg/kg de peso corporal, de aproximadamente 0.01 µg a aproximadamente 10 µg/kg de peso corporal, de aproximadamente 0.01 µg a aproximadamente 1 µg/kg de peso corporal, de aproximadamente 0.01 µg a aproximadamente 0.1 µg/kg de peso corporal, de aproximadamente 0.1 µg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 0.1 µg a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 0.1 µg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 0.1 µg a aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 0.1 µg a aproximadamente 100 µg/kg de peso corporal, de aproximadamente 0.1 µg a aproximadamente 10 µg/kg de peso corporal, de aproximadamente 0.1 µg a aproximadamente 1 µg/kg de peso corporal, de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 1 µg a

aproximadamente 100 µg/kg de peso corporal, de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 50 µg/kg de peso corporal, de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 10 µg/kg de peso corporal, de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 100 µg/kg de peso corporal, de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 50 µg/kg de peso corporal, de aproximadamente 50 µg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 50 µg a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 50 µg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 50 µg a aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 50 µg a aproximadamente 100 µg/kg de peso corporal, de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal.

[0298] Las dosis se pueden administrar una o más veces al día, semanalmente, mensualmente o anualmente, o incluso una vez cada 2 a 20 años. Los expertos en la materia pueden estimar fácilmente las tasas de repetición para la dosificación basándose en los tiempos de residencia medidos y las concentraciones del constructo o complejo objetivo en los fluidos o tejidos corporales. La administración de la presente invención podría ser intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea, intrapleuraleal, intratecal, intracavitaria, por perfusión a través de un catéter o por inyección intralesional directa. Esta 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.

[0299] La descripción anterior describe múltiples aspectos y modalidades de la invención. La solicitud de patente contempla específicamente todas las combinaciones y permutaciones de los aspectos y modalidades.

EJEMPLOS

[0300] La invención que se describe ahora en general se entenderá más fácilmente con referencia a los siguientes ejemplos, que se incluyen simplemente con el propósito de ilustrar ciertos aspectos y modalidades de la presente invención, y no se pretende que limite la invención.

EJEMPLO 1 Caracterización de sobrenadantes de clones de hibridomas seleccionados

[0301] 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 37 °C para imitar la temperatura fisiológica utilizando un instrumento Biacore 8K. Los sensorgramas y parámetros cinéticos de Biacore se presentan en la Tabla 8 y los datos brutos y los ajustes se muestran en la FIG. 18. Siete de once hibridomas unidos con K_D menor de 10 nM, y cinco muestran una constante de tasa de disociación lenta ($k_d < 5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$).

[0302] La combinación de fusiones de hibridomas con mAbs 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 200 nM de hFLT3-His y se dejaron asociar durante 180 segundos seguido de inmersión en 100 nM de IgG de control o 200 nM de solución de ligando FTL3. 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 11.

Tabla 11. Anticuerpos de referencia

mAb de α -FLT3	VH	VL
-----------------------	----	----

4G8 (Syimmune), divulgado en la publicación de solicitud de EE. UU. No. 2015/0119555A1	QVQLQQPGAELVKPGASLKLCKS SGYTFTSYWMHWVRQRPBGHLE WIGEIDPSDSYKDYNQKFKDKATL TVDRSSNTAYMHLSSLTSDDSAVY YCARAITTTPFDFWGGQTTTLTVSS (SEQ ID NO:306)	DIVLTQSPATLSVTPGDSVSL CRASQSISSNNLHWYQQKSHE PRLLIKYASQSISSGIPSRFSGSG SGTDFTLSINSVETEDFGVYFC QQSNTWPYTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:307)
EB10 (ImClone/Lilly), divulgado en la Publicación de Solicitud de EE. UU. 2011/0008355A1	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK ASGYTFTSYMHWRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMESSLRSEDATV YYCARGVGAHDAFDIWGQGTTVT VSS (SEQ ID NO:308)	DVVMQTQSPSLPVTTPGEPASIS CRSSQSLHLSNGNNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSRNASGV PDRFSGSGSDTDFTLQISRVEA EDVGVYYCMQGTTHPAISFGQ GTRLEIK (SEQ ID NO:309)
NC7 (Imclone/Lilly), divulgado en la Publicación de Solicitud de EE. UU. No. 2011/0008355A1	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLE WMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDATVY YCATFALFGFREQAQFDIWGQGTTV TVSS (SEQ ID NO:310)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT CRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDLATY YCQQSYSTPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:311)
FL23 (Amgen), divulgado en la Publicación de Solicitud de EE. UU. No. 2017/0037149A1	QVTLKESGPALVKPTETLTLTCTV SGFSFRNARMGVSWIRQPPGKALE WLAHIFSNDEKSYSTSLKSRLTISK DTSKSQVVLTLTNMDPVDATATYF CARMPEYSSGWSGAFDIWGQGTMT VTVSS (SEQ ID NO:312)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT CRASQDIGYDLGWYQQKPGK APKRLIYAASLTQSGVPSRFS GSGSGTEFTLIISLQPEDFAT YYCLQHNSFPWTFGQGTKEIK (SEQ ID NO:313)
FL39 (Amgen), divulgado en la Publicación de Solicitud de EE. UU. No. 2017/0037149A1	QVTLKESGPTLVKPTETLTLTCTLS GFSLNARMGVSWIRQPPGKCLE WLAHIFSNDEKSYSTSLKNRLTISK DSSKTQVVLTMNVDPVDATATYY CARIVGYGSGWYGFDFYWGQGT VTVSS (SEQ ID NO:314)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT CRASQGIRNDLGWYQQKPGK APKRLIYAASLTQSGVPSRFS GSGSGTEFTLTISLQPEDFAT YYCLQHNSYPLTFGCGTKVEIK (SEQ ID NO:315)
FL61 (Amgen), divulgado en la Publicación de Solicitud de EE. UU. No. 2017/0037149A1	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCA ASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAVISYDGSNEFYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGGEITMVRGVIGYGGYGM DVWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO:316)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITIT CRASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCLQHNSYPLTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:317)

[0303] Se observó que los anticuerpos producidos a partir de cinco de los hibridomas, concretamente 4A4, 11F4, 1A2, 4H2 y 13C9, no competían con ninguno de los anticuerpos de referencia por la unión a hFLT3-His. Se evaluó la reactividad cruzada con FLT3 de monomolgus (cFLT3) midiendo la unión de los anticuerpos a células RMA isogénicas que expresan cFLT3.

[0304] En resumen, se transdujeron células RMA 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 pozo de una placa de fondo redondo de 96 pozos. 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 pozo y se incubaron en la oscuridad a temperatura ambiente durante 20 minutos. Las células se lavaron con 200 μ l de amortiguador 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 de Fc-PE anti-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 amortiguador 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).

[0305] 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 ALL humana que expresa FLT3. Como se muestra en la Tabla 12, 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 mono cynomolgus para 14A5 y 15A11.

Tabla 12. 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_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (nM)	RMA-hFLT3	RMA-cFLT3	REH
4A4	único	3.38×10^5	3.35×10^{-4}	1.0	1493	2002	2002
11F4	único	1.73×10^5	1.88×10^{-4}	1,1	305	495	495
12H10	4G8	1.74×10^5	3.43×10^{-4}	2,0	544	696	696
15A11	EB10	4.99×10^5	1.17×10^{-4}	2,3	332	n/a	n/a
12C9	FL23	5.67×10^4	3.11×10^{-4}	5,4	1020	3937	664
1A2	único	1.14×10^5	7.49×10^{-4}	6,5	238	461	461
14A5	FL23	1.70×10^5	1.49×10^{-3}	8,7	1005	n/a	2071
4H2	único	8.05×10^4	9.18×10^{-4}	11	570	1017	1017
13C9	único	2.12×10^5	3.02×10^{-3}	14	546	834	834

8F02	FL23	1.67×10^5	2.80×10^{-3}	17	829	2729	2271
14H08	FL23	1.29×10^5	2.40×10^{-3}	19	959	3074	1776

Ejemplo 2 Análisis de anticuerpos murinos anti-FLT3 purificados

[0306] En base al análisis descrito en el Ejemplo 1, 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 precursor. Se determinó que las secuencias de cada hibridoma eran únicas. Cada subclon se purificó del cultivo de hibridoma y la unión a hFLT3-His se confirmó mediante SPR como se muestra en la FIG. 19. Las constantes cinéticas y las afinidades de unión de hFLT3 a mAbs subclonados murinos purificados se muestran en la Tabla 13. El agrupamiento con anticuerpos de referencia se realizó utilizando el método descrito en el Ejemplo 1, y cuatro anticuerpos, a saber, 4A4.A3, 11F4.B9, 1A2.A3 y 4H2.E3, no compitieron con ninguno de los anticuerpos de referencia por la unión a hFLT3-His.

Tabla 13: Parámetros cinéticos y afinidades de la unión de hFLT3 a subclones murinos purificados

Artículos de prueba	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (nM)
1A2.A3	1.1×10^5	8.9×10^{-4}	8,5
4A4.A3	1.1×10^5	8.2×10^{-4}	7,3
4H2.E3	5.7×10^4	1.0×10^{-3}	17,6
11F4.B9	1.5×10^5	2.5×10^{-4}	1,7
12C9.E5	3.4×10^4	6.3×10^{-4}	18,7
12H10.G7	1.0×10^5	5.5×10^{-4}	5,4
14A5.E8	1.3×10^5	1.9×10^{-3}	15,1
15A11.C8	4.5×10^4	4.8×10^{-4}	10,5

[0307] 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 14). De manera similar, todos los subclones se unieron con alta afinidad a SEM (número de catálogo DSMZ ACC 546), una línea de células de ALL humana que expresaba FLT3.

Tabla 14: Confirmación de unión celular de mAb de ratón purificados a líneas celulares FLT3 RMA de mono cynomolgus y humano

Artículos de prueba	RMA-hFLT3	RMA-hFLT3 Max MFI	RMA-cFLT3	RMA-cFLT3 Max MFI	SEM EC50 (nM)	SEM Max MFI
---------------------	-----------	-------------------	-----------	-------------------	---------------	-------------

	EC50 (nM)		EC50 (nM)			
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	NB*	NB	NB	NB	NB	NB
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

[0308] Este ejemplo describe experimentos diseñados para caracterizar la capacidad de los anticuerpos murinos anti-FLT3 seleccionados para bloquear interacciones FLT3 con ligando 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 la **FIG. 20**, los anticuerpos 12H10.G7, 11F4.B9 y 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 presunta secuencia

[0309] Este ejemplo describe experimentos diseñados para examinar las posibles alteraciones de secuencia en las CDR (identificadas bajo Chothia) de los anticuerpos 12H10.G7, 11F4.B9 y 4A4.A3, 14A5.E8. Se consideraron las siguientes obligaciones 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 15.

Tabla 15. Posibles riesgos de secuencia en las CDRs de mAbs murinos seleccionados

ID del clon	Motivo potencial de responsabilidad de secuencia	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	ninguno	

[0310] Además, también se identificó un presunto riesgo de secuencia en M34, que cae dentro de CDRH1 de 12H10.G7 bajo Kabat. Se diseñaron variantes de estos anticuerpos para eliminar los presuntos motivos de riesgo de secuencia.

Ejemplo 5. Humanización y Maduración por Afinidad

[0311] En base a los datos recopilados con respecto a la cinética y la afinidad para la proteína hFLT3 recombinante, unión a líneas celulares que expresan FLT3 humana y de mono cynomolgus, unión a diferentes células cancerosas de AML y ALL, perfil de agrupación, así como no inhibición de la unión del ligando FLT3 humano, se seleccionaron cuatro subclones de hibridoma de ratón, a saber, 12H10.G7, 11F4.B9, 4A4.A3 y 14A5.E8, para humanización. Aunque 4A4.A3 y 14A5.E8 mostraron afinidades ligeramente inferiores a hFLT3 que 12H10.G7 y 11F4.B9, estos anticuerpos parecieron 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 epítopos.

[0312] El anticuerpo 12H10.G7 se humanizó para crear GB94 y GB102 como se describió anteriormente, 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.

[0313] 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 se sometió 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 antígeno FLT3-His humano biotinilado. 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 humano biotinilado de 100 nM a 1 nM. La clasificación se realizó a 10 nM, donde se observó un claro aumento en la señal para la

biblioteca en comparación con la original. Los clones de levadura clasificados se sembraron y se cribaron.

Ejemplo 6. Evaluación de la unión de TriNKET a células que expresan antígenos de cáncer humano

[0314] Se usaron líneas celulares isogénicas que expresan ectópicamente FLT3 humano y de mono cynomolgus para evaluar la reactividad cruzada entre FLT3 humano y de mono cynomolgus. Se usó la línea celular de cáncer humano RMA que expresa hFLT3 o cFLT3 para evaluar la unión del antígeno tumoral de TriNKET dirigido a FLT3 y mAb precursor. Las líneas celulares de AML humana MOLM-13 y MV4-11 y la línea celular de ALL humana REH se usaron para evaluar la capacidad de unión del TriNKET o mAb precursor. En particular, las células MOLM-13 y las células MV4-11, que expresaban FLT3-T227M y FLT3-ITD, respectivamente, se utilizaron para evaluar la capacidad de TriNKET que se dirige a FLT3 y mAb precursor para unirse a FLT3 mutante.

[0315] El anticuerpo monoclonal GB102 en formato IgG1 humano, también llamado mAb 1158, y su correspondiente TriNKET F3'-GB102 descrito anteriormente, también llamado F3'-1158, se diluyeron e incubaron 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 de doblez (FOB).

[0316] Como se muestra en la **FIG. 21A** y **FIG. 21B**, mAbs F3'-1158 y 1158 se unieron cada uno a las células RMA que expresan ectópicamente FLT3 humano y cynomolgus con una potencia equivalente. Como se muestra en la **FIG. 21C**, mAbs F3'-1158 y 1158 se unieron a células REH, que eran células de ALL humana. Como se muestra en las **FIGs. 22A and 22B**, los mAb F3'-1158 y 1158 se unieron cada uno a las células MOLM-13 y las células MV4-11, que expresaban FLT3-T227M y FLT3-ITD, respectivamente.

Ejemplo 7. Evaluación de la internalización de TriNKET o mAb

[0317] Se usó la línea celular de cáncer humano EOL-1, derivada de leucemia eosinofílica, para evaluar la internalización de FLT3 después de la incubación con mAb F3'-1158 o 1158. Se incubaron células EOL-1 en placas duplicadas con mAb F3'-1158, 1158 o

anticuerpo de control de isotipo hIgG1 a 37 °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:

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

[0318] Las FIGs

23A-23B muestran la internalización de FLT3 después de la incubación con mAb F3'-1158 y 1158 en REH (**Fig.**

23A) y EOL-1 (**FIG. 23B**). El mAb precursor indujo menos del 10% de internalización de FLT3, mientras que el TriNKET dirigido a FLT3 indujo menos del 5% de internalización de FLT3.

Ejemplo 8. Ensayo de citotoxicidad de células NK humanas primarias

[0319] 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 $10^6/\text{ml}$ para marcarlas con el reactivo BATDA (Perkin Elmer C136-100). Se siguieron las instrucciones del fabricante para el etiquetado de las células objetivo. Después del etiquetado, las células se lavaron tres veces con HBS y se resuspendieron a $0,5-1,0 \times 10^5/\text{ml}$ en medio de cultivo. Se añadieron 100 μl de células marcadas con BATDA a cada pozo de la placa de 96 pozos. Los anticuerpos monoclonales o TriNKET contra FLT3 se diluyeron en medio de cultivo y se añadieron 50 μl de mAb o TriNKET diluidos a cada pozo.

[0320] 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 $>90\%$ 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 $10^5-2,0 \times 10^6/\text{ml}$ en medio de cultivo para una relación de efector a objetivo (E:T) de 5:1. Se añadieron 50 μl de células NK a cada pozo de la placa para un volumen total de cultivo de 200 μl . La placa se incubó a 37 °C con 5% de CO_2 durante 2-3 horas.

[0321] 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 pozo 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.

[0322] 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:

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

[0323] Las FIGs 24A-24D muestran la actividad de mAb F3'-1158 o 1158 en la mejora de la muerte mediada por células NK primarias de líneas celulares de AML o ALL humana EOL-1 (FIG. 24A), Reh (FIG. 24B), RS4-11 (FIG. 24C), y MV4-11 (FIG. 24D). F3'-1158 demostró una muerte más potente en comparación con su mAb 1158 precursor.

[0324] Para evaluar si el sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D y la función efectora de la Fc contribuyeron a la citotoxicidad de F3'-1158, se construyeron dos variantes de TriNKET. La primera variante contiene mutaciones en el dominio variable de cadena ligera del sitio de unión al antígeno A49 que se une a NKG2D. Como resultado, esta variante no se une a NKG2D humana. La secuencia de aminoácidos del dominio variable de la cadena ligera mutante es

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASNSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYEASSTKSGV
PSRFGSGSGTEFTLTISSLQPDDEFATYYCQQYDDLPTFGGGTKVEIK (SEQ ID

NO:305). Por lo demás, las secuencias de aminoácidos de esta primera variante son idénticas a las de F3'-1158. La segunda variante contiene mutaciones en el dominio Fc.

Específicamente, cada cadena polipeptídica del dominio Fc contiene sustituciones L234A/L235A/P329G (numeradas de acuerdo con el sistema de numeración de la UE), que se informó que reduce la unión de Fc a los receptores Fcγ. Por lo demás, las secuencias de aminoácidos de esta segunda variante son idénticas a las de F3'-1158.

[0325] La capacidad de estas variantes para inducir la lisis de células objetivo mediada por células NK se evaluó usando el ensayo de citotoxicidad DELFIA descrito anteriormente. Como se muestra en la FIG. 25, las mutaciones en el dominio de dirección NKG2D y en el

dominio Fc redujeron sustancialmente la citotoxicidad. Este resultado sugirió que la unión a NKG2D y la unión a los receptores Fc γ contribuyeron a la actividad citotóxica de F3'-1158.

Ejemplo 9. Ensayo de citotoxicidad de células T humanas primarias

[0326] La lisis de las células objetivo se midió mediante el ensayo de citotoxicidad DELFIA como se describe en el Ejemplo 8, excepto que se usaron células T CD8⁺ como células efectoras inmunes. Las células T CD8⁺ se prepararon de la siguiente manera: Se aislaron PBMC humanas de capas leucocíticas de sangre periférica humana usando centrifugación en gradiente de densidad con Lymphoprep y SepMate 50, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se estimularon PBMC aisladas con 1 μ g/ml de ConA (un suplemento de cultivo de IL-2) en medio de cultivo a 37 °C durante 18 horas. Luego se eliminó la ConA y las PBMC se cultivaron con 25 unidades/ml de IL-2 a 37 °C durante 4 días. Las células T CD8⁺ se purificaron utilizando una técnica de selección negativa con perlas magnéticas (kit de aislamiento de células T CD8⁺ humanas), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se cultivaron células T CD8⁺ en medio que contenía 10 ng/ml de IL-15 a 37 °C durante 6-13 días antes de usarlas en el ensayo de citólisis.

[0327] Como se muestra en la **FIG. 26**, F3'-1158, pero no mAb 1158, mejoró significativamente la capacidad de las células T CD8 para lisar las células objetivo RS4-11. F3'-1158 aumentó la lisis mediada por células T CD8⁺ de células RS4-11 de una manera dependiente de la dosis.

Ejemplo 10. Evaluación de la unión de TriNKET o mAb a sangre humana completa

[0328] Se evaluó la capacidad de los mAb F3'-1158 y 1158 para unirse a diferentes tipos de células sanguíneas. Brevemente, se incubó sangre entera humana con los mAb F3'-1158, 1158 o un anticuerpo de control de isotipo IgG1 humano. Las células sanguíneas se analizaron mediante citometría de flujo y unión de los mAb F3'-1158, 1158, o se detectó el anticuerpo de control de isotipo usando un anticuerpo secundario de IgG antihumano conjugado con fluoróforo.

[0329] Como se muestra en la **FIG. 27**, los mAb F3'-1158 y 1158 no mostraron una unión significativa a granulocitos, monocitos, células B, células NK, células T CD8⁺ y células T CD4⁺ en la sangre.

Ejemplo 11. Activación de la señalización de FLT3

[0330] La fosforilación de FLT3, un marcador de la señalización de FLT3, se midió mediante pFLT3 ELISA (R&D Systems DYC368). Las células EOL-1 se sembraron en placas de fondo redondo de 96 pozos. Se agregaron los mAb F3'-1158, 1158 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 Amortiguador de Lysis #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 #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 representaron frente a sus respectivas concentraciones y los datos se ajustaron a un modelo de regresión lineal.

[0331] Como se muestra en la **FIG. 28A**, FLT3L condujo a un aumento de 3 veces en los niveles de pFLT3, mientras que los mAb F3'-1158 y 1158 no indujeron una fosforilación significativa de FLT3. **La Fig. 28B** muestra que cuando las células se incubaron con LOS mAb F3'-1158 o 1158 en combinación con FLT3L, ni el mAb F3'-1158 ni 1158 inhibieron la fosforilación de FLT3 inducida por FLT3L. Estos resultados fueron consistentes con la observación de que mAb 1158 no compitió con FLT3L para unirse a FLT3.

INCORPORACIÓN POR REFERENCIA

[0332] A menos que se indique lo contrario, la descripción completa de cada uno de los documentos de patente y artículos científicos mencionados aquí se incorpora como referencia para todos los propósitos.

EQUIVALENTES

[0333] La invención puede realizarse en otras formas específicas sin desviarse de la esencia o características esenciales de la misma. Por lo tanto, las modalidades anteriores deben considerarse en todos los aspectos ilustrativos en lugar de limitar la invención descrita aquí. 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 rango de equivalencia de las reivindicaciones deben incluirse en las mismas.

LISTADO DE SECUENCIAS

SEQ ID NO.	Descripción	SECUENCIA
1	12H10.G7-VH	EVQLQESGPPELVKPGASVKMSCKASGYTFTRYVMHWVKQRPGQGLE WIGFINPYNDDTKYNEKFKGKATLTSDKSSSTAYMELSSLTSEDSA VYHCAWRQLGSLDSWGQGTTLTVSS
2	12H10.G7-VL	NIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSRSDFTLTIDPVEADDAATYYC QQNNEEPWTFGGGKLEIK
3	scFv de 12H10.G7 GB87 humanizado (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLE WMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTA VYHCAWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGS DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIK
4	12H10.G7-VH CDR2	NPYNDD
5	12H10.G7-VH CDR3	WRQLGSLDS
6	12H10.G7-VL CDR1	RASESVDTYGSSSFVH
7	12H10.G7-VL CDR2	LASNLES
8	12H10.G7-VL CDR3	QQNNEEPWT
9	12H10.G7-VH humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRL WMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTA VYHCAWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS
10	12H10.G7-VL humanizado	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGGGKLEIK
11	12H10.G7 GB87 humanizado/GB95- VH CDR1	GYTFTRY
12	scFv de 12H10.G7 GB95 humanizado (VL-VH)	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQS GAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINP YNDDTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYHCAWR QLGSLDSWGQGTTVTVSS
13	12H10.G7 GB88 humanizado/GB96- VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRL WMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTA VYHCAWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS
14	11F4.B9 humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYSTGYIHWVRQPGQGLE WMGEIIPSTGSTIYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCERWGDYYGRDYWGQGTTLTVSS
15	scFv de 12H10.G7 GB88 humanizado (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLE WMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTA VYHCAWRQLGSLDSWGQGTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGS DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIK
16	scFv de 12H10.G7 GB96 humanizado (VL-VH)	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQS GAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINP YNDDTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTAVYHCAWR QLGSLDSWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO.	Descripción	SECUENCIA
17	12H10.G7 GB89 humanizado/GB97-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRLEWMGFINPYNDGTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTITVTVSS
18	Región extracelular de hFLT3-ITD	NQDLPLVIKCVLINHKNNDSVVGKSSSYPMVSESPEDLGCALRPQSSGTVEYAAAVEVDVSASITLQVLVDAPGNISCLWVFKHSSLNCQPHFDLQNRGVVSMVILKMTETQAGEYLLFIQSEATNYTILFTVSIIRNTLLYTLRRPYFRKMENQDALVCISESVPEPIVEWVLCDSDQGESCKEESPAVVKKEEKVLHELFGTDIRCCARNELGRECTRLFTIDLNQTPQTTLPQLFLKVGEPWLWIRCKAVHVNHGFLTWELNKALEEGNYFEMSTYSTNRTMIRILFAFVSSVARNDTGYYTCSSSKHPSQSALVTIVEKGFINATNSSSEDYEIDQYEEFCFSVRFKAYPQIRCTWTFSRKSFPCEQKGLDNGYSISKFCNKHQPGEYIFHAENDDAQFTKMFTLNIRRPQVLAEASASQASCFSDGYPLPSWTWKKCSDKSPNCTEEITEGVWNRKANRKFVFGQWVSSSTLNMSEAIKGFVLKCCAYNSLGTSCETILLNSPGFPFPIQDNIS
19	scFv de 12H10.G7 GB89 humanizado (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDGTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK
20	scFv de 12H10.G7 GB97 humanizado (VL-VH)	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDGTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTITVTVSS
21	Secuencia Fc de IgG1 humana tipo salvaje	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTITLVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPKVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSGSEFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
22	12H10.G7 GB90 humanizado/GB98-VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGGGKVEIK
23	scFv de 12H10.G7 GB90 humanizado (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDGTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTITVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK
24	scFv de 12H10.G7 GB98 humanizado (VL-VH)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRDFTLTISLQAEDAATYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDGTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTITVTVSS
25	Región extracelular de hFLT3-T227M	NQDLPLVIKCVLINHKNNDSVVGKSSSYPMVSESPEDLGCALRPQSSGTVEYAAAVEVDVSASITLQVLVDAPGNISCLWVFKHSSLNCQPHFDLQNRGVVSMVILKMTETQAGEYLLFIQSEATNYTILFTVSIIRNTLLYTLRRPYFRKMENQDALVCISESVPEPIVEWVLCDSDQGESCKEESPAVVKKEEKVLHELFGMDIRCCARNELGRECTRLFTIDLNQTPQTTLPQLFLKVGEPWLWIRCKAVHVNHGFLTWELNKALEEGNYFEMSTYSTNRTMIRILFAFVSSVARNDTGYYTCSSSKHPSQSALVTIVEKGFINATNSSSEDYEIDQYEEFCFSVRFKAYPQIRCTWTFSRKSFPCEQKGLDNGYSISKFCNKHQPGEYIFHAENDDAQFTKMFTLNIRRPQVLAEASASQASCFSDGYPLPSWTWKKCSDKSPNCTEEITEGVWNRKANRKFVFGQWVSSSTLNMSEAIKGFVLKCCAYNSLGTSCETILLNSPGFPFPIQDNIS

SEQ ID NO.	Descripción	SECUENCIA
26	scFv de 12H10.G7-VL humanizado	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSFVHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGGGKVEIK
27	scFv de 12H10.G7 GB91 humanizado (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLE WMGFINPYNDGTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTA VYHCAWRQLGSLDSWGQGTITVTVSSSGGGSGGGSGGGSGGGGS DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSFVHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIK
28	scFv de 12H10.G7 GB99 humanizado (VL-VH)	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSFVHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDAATYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS QVQLVQS GAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINP YNDGTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYHCAWR RQLGSLDSWGQGTITVTVSS
29	14A5.E8 humanizado -VH de consenso	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKVSGYTFX ₁ X ₂ YWINWVRQX ₃ PGKX ₄ LEWMGNIYPGSSIINYNENFKNRVTMTX ₅ DTX ₆ DTAYMELSSLRSE DTAVYYCARRX ₇ VYLY ₈ FDYWGQGTITVTVSS, donde X ₁ es P o T, X ₂ es S o Y, X ₃ es A o R, X ₄ es C o G, X ₅ es V o E, X ₆ es S o T, X ₇ es N o V, y X ₈ es T o Y
30	12H10.G7 GB92 humanizado/GB100 -VL	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSFVHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDVATYYC QQNNEEPWTFGGGKVEIK
31	scFv de 12H10.G7 GB92 humanizado (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLE WMGFINPYNDGTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTA VYHCAWRQLGSLDSWGQGTITVTVSSSGGGSGGGSGGGSGGGGS DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSFVHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDVATYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIK
32	scFv de 12H10.G7 GB100 humanizado (VL-VH)	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSFVHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDVATYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS QVQLVQS GAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINP YNDGTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYHCAWR RQLGSLDSWGQGTITVTV
33	4H2.E3-VH CDR2	NPYSDG
34	12H10.G7 GB93 humanizado/GB101 -VL	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSFVHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDAAYYYC QQNNEEPWTFGGGKVEIK
35	scFv de 12H10.G7 GB93 humanizado (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLE WMGFINPYNDGTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTA VYHCAWRQLGSLDSWGQGTITVTVSSSGGGSGGGSGGGSGGGGS DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSFVHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDAAYYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIK
36	scFv de 12H10.G7 GB101 humanizado (VL-VH)	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSFVHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSRTDFTLTISLQAEDAAYYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS QVQLVQS GAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINP YNDGTKYNEKFKGRVTITSDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYHCAWR RQLGSLDSWGQGTITVTVSS
37	12H10.G7 GB94 humanizado/GB102 -VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRLE WMGFINPYNDGTKYNEKFKGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDTA VYYCARWRQLGSLDSWGQGTITVTVSS
38	12H10.G7 GB94 humanizado/GB102 -VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSFVHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVATYYC QQNNEEPWTFGGGKVEIK

SEQ ID NO.	Descripción	SECUENCIA
39	scFv de 12H10.G7 GB94 humanizado (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDGTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK
40	scFv de 12H10.G7 GB102 humanizado (VL-VH)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDGTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSS
41	12H10.G7 GB102 D101E-VH Humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRLEWMGFINPYNDGTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSS
42	12H10.G7 humanizado GB102 -VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK
43	scFv de 12H10.G7 humanizado GB102 D101E (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDGTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK
44	scFv de 12H10.G7 humanizado GB102 D101E (VL-VH)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDGTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSS
45	12H10.G7 GB102 M34I-VH Humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQRLEWMGFINPYNDGTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSS
46	14H8.E7-VL CDR3	QQWSSKSPT
47	scFv de 12H10.G7 humanizado GB102 M34I (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDGTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIK
48	scFv de 12H10.G7 humanizado GB102 M34I (VL-VH)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDGTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSS
49	12H10.G7 GB102 M34I/D101E-VH Humanizado	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQRLEWMGFINPYNDGTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSS
50	12H10.G7 GB102 M34I humanizado/D101E -CDR3	WRQLGSLES
51	scFv de 12H10.G7 humanizado GB102 M34I/D101E (VH-VL)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWMGFINPYNDGTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARWRQLGSLDSWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSFVHWYQQKPGQ

SEQ ID NO.	Descripción	SECUENCIA
		PPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIK
52	scFv de 12H10.G7 humanizado GB102 M34I/D101E (VL-VH)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQS GAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWMGFINP YNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARW RQLGSLSWGGQTTTVTVSS
53	12H10.G7 humanizado 1-VH de consenso	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVX ₁ HWVRQAPGQRLE WMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTA VYYCARWRQLGSLX ₂ SWGQGTTVTVSS, donde X ₁ es M o I, y X ₂ es E o D
54	14A5.E8 humanizado VH de consenso CDR3	RX ₁ VYLYX ₂ FDY, donde X ₁ es N o V, y X ₂ es T o Y
55	12H10.G7 humanizado 1-VH de consenso CDR3	WRQLGSLXS, donde X es E o D
56	12H10.G7 humanizado 2 -VH de consenso	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVMHWVRQAPGQRLE WMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITX ₁ DTSASTAYMELSSLRSEDTA VYX ₂ CARWRQLGSLDSWGQGTTVTVSS, donde X ₁ es S o R, y X ₂ es Y o H
57	12H10.G7 humanizado 2 -VL de consenso	DIVMTQSPX ₁ SLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQ PPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSX ₂ TDFTLTISSLQAEDX ₃ AX ₄ YY CQQNNEEPWTFGGGTKVEIK, donde X ₁ es A o D, X ₂ es R o G, y X ₃ es A o V, y X ₄ es T o V
58	12H10.G7 humanizado 3-VH de consenso	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTRYVX ₁ HWVRQAPGQCLE WMGFINPYNDDTKYNEKFKGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTA VYYCARWRQLGSLX ₂ SWGQGTTVTVSS, donde X ₁ es M o I, y X ₂ es E o D
59	14A5.E8 humanizado VH de consenso CDR1	GYTFX ₁ X ₂ Y, donde X ₁ es P o T, y X ₂ es S o Y
60	14A5.E8-VH	EVQLQESGAELVQPGASVRLSCKASGYTFTSYWINWVKRPGQGLE WIGNIYPGSSIINYNENFKNRATLTVDTSSTAYMQLSSLTSDDSA VYYCARRVVYLYFDYWGQGTTLTVSS
61	14A5.E8-VL	QIVLTQSPAISASAPGEKVTMTCSASSSVSYMHYQQKSGTSPKRW IYDTSKSLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISSEAEADAATYYCQQWTS KSPTFGGGTKLEIK
62	14A5.E8-VH CDR1	GYTFTSY
63	14A5.E8-VH o 14A5.E8 humanizado VH de consenso CDR2	YPGSSI
64	14A5.E8-VH CDR3	RVVYLYFDY
65	14A5.E8-VL CDR1	SASSSVSYMH
66	14A5.E8-VL o 14A5.E8 humanizado VL de consenso CDR2	DTSKLS
67	14A5.E8-VL o 14A5.E8 humanizado VL de consenso CDR3	QQWTSKSPT
68	14A5.E8 1551 humanizado/1552-VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCVSGYTFTSYWINWVRQRPKGLE WMGNIYPGSSIINYNENFKNRVTMTVDTSSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARRVVYLYFDYWGQGTTLTVSS

SEQ ID NO.	Descripción	SECUENCIA
69	14A5.E8 1551 humanizado/1552-VL	EIVLTQSPATLSLSPGEEKATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLL IYDTSKSLASGIPARFSGSGSGTSTFTLTISSELEPEDAAVYYCQQWTS KSPTFGGGTKVEIK
70	scFv de 14A5.E8 1551 humanizado (VH-VL)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSVCKVSGYTFTSYWINWVRQRPKGKCLE WMGNIYPGSSIIINYNENFKNRVTMTVDTSSDTAYMELSSLRSEDTA VYYCARRVVYLYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGS EIVLTQSPATLSLSPGEEKATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLL IYDTSKSLASGIPARFSGSGSGTSTFTLTISSELEPEDAAVYYCQQWTS KSPTFGCGTKVEIK
71	scFv de 14A5.E8 1552 humanizado (VL-VH)	EIVLTQSPATLSLSPGEEKATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLL IYDTSKSLASGIPARFSGSGSGTSTFTLTISSELEPEDAAVYYCQQWTS KSPTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSVCKVSGYTFTSYWINWVRQRPKGKCLEWMGNIYPGSSII NYNENFKNRVTMTVDTSSDTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRVVYLY FDYWGQGTLVTVSS
72	14A5.E8 1553 humanizado/1554-VH	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSVCKVSGYTFTSYWINWVRQAPGKGLE WMGNIYPGSSIIINYNENFKNRVTMTEDTSTDYAYMELSSLRSEDTA VYYCARRVVYLYFDYWGQGTLVTVSS
73	14A5.E8 1553 humanizado/1554-VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLL IYDTSKSLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQWTS KSPTFGGGTKVEIK
74	scFv de 14A5.E8 1553 humanizado (VH-VL)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSVCKVSGYTFTSYWINWVRQAPGKCLE WMGNIYPGSSIIINYNENFKNRVTMTEDTSTDYAYMELSSLRSEDTA VYYCARRVVYLYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGS EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLL IYDTSKSLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQWTS KSPTFGCGTKVEIK
75	scFv de 14A5.E8 1554 humanizado (VL-VH)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGQAPRLL IYDTSKSLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQWTS KSPTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSVCKVSGYTFTSYWINWVRQAPGKCLEWMGNIYPGSSII NYNENFKNRVTMTEDTSTDYAYMELSSLRSEDTAVYYCARRVVYLY FDYWGQGTLVTVSS
76	14A5.E8 humanizado 1689-VH	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSVCKVSGYTFFYYWINWVRQAPGKGLE WMGNIYPGSSIIINYNENFKNRVTMTEDTSTDYAYMELSSLRSEDTA VYYCARRNVYLTDFDYWGQGTLVTVSS
77	14A5.E8 humanizado 1689-VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYIHWYQQKPGQAPRLL IYDTSKSLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQWTS KSPTFGGGTKVEIK
78	14A5.E8 1689-VH CDR1 Humanizado	GYTFFYY
79	14A5.E8 1689-VH CDR3 Humanizado	RNVYLTDFDY
80	14A5.E8 1689-VL CDR1 Humanizado	SASSSVSYIH
81	scFv de 14A5.E8 1689 humanizado (VH-VL)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKVSVCKVSGYTFFYYWINWVRQAPGKCLE WMGNIYPGSSIIINYNENFKNRVTMTEDTSTDYAYMELSSLRSEDTA VYYCARRNVYLTDFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGS EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYIHWYQQKPGQAPRLL IYDTSKSLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQWTS KSPTFGCGTKVEIK
82	scFv de 14A5.E8 1689 humanizado (VL-VH)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYIHWYQQKPGQAPRLL IYDTSKSLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQWTS KSPTFGCGTKVEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVK KPGASVKVSVCKVSGYTFFYYWINWVRQAPGKCLEWMGNIYPGSSII NYNENFKNRVTMTEDTSTDYAYMELSSLRSEDTAVYYCARRNVYLT FDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO.	Descripción	SECUENCIA
83	14H8.E7-VL	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVSYMHWYQQKSGTSPKRW IFDTSKSLASGVPVRFSGSGSGTSYSLTITNMETEDAATYYCQQWSS KSPTFGGGTKLEIK
84	14A5.E8 humanizado VL de consenso	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYXHWYQQKPGQAPRLL IYDTSKSLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWTS KSPTFGGGTKVEIK, donde X es M o I
85	11F4.B9-VH	EVQLQESGPPELVKPGASVKISCKASGYSTGYIHWVKQGPEKSLE WIGEIIIPSTGSTIYNQKFKAKATLTVDKSSSTAYLQLKSLTSEDSA VYYCERWGDYYGRDYWGQGTSTVTVSS
86	14A5.E8 humanizado VL de consenso CDR1	SASSSVSYXH, en donde X es M o I
87	11F4.B9-VH CDR1	GYSFTGY
88	11F4.B9-VH CDR2	IPSTGS
89	11F4.B9-VH CDR3	WGDYYGRDY
90	11F4.B9-VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASESVDIYGNFSFMHWYQQKPGQ PPKLLIYRASNLSESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYC QQSNEDPRTFGGGTKLEIK
91	11F4.B9-VL CDR1	RASESVDIYGNFSFMH
92	11F4.B9-VL CDR2	RASNLES
93	11F4.B9-VL CDR3	QQSNEDPRT
94	11F4.B9-VL humanizado	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDIYGNFSFMHWYQQKPGQ PPKLLIYRASNLSESGVPDRFSGSGSRTDFTLTINSLQAEDVATYYC QQSNEDPRTFGGGTKVEIK
95	4A4.A3-VH	QVTLKESGPGILQPSQTLSTLCSFSGFSLTTYGMGVGWIRQPSGKG LEWLANIWFNDNKYYNSTLKSRLTISKDTSNNQVFLKISSVDTTDT ATYYCAQITTVVGTFDYWGQGSPLTVSP
96	4A4.A3-VL	RIVMTQSPPTMAASPGEKITITCSASSSISSIIYLHWYQQKPGFSPK LLIFRTSDLASGVPVPRFSGSGSGTSYSLTIGTMEADVATYYCQQG SSFPRTFGGGTKEIK
97	4A4.A3-VH CDR1	GFSLTITYGM
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
103	4A4.A3-VL CDR3	QQGSSFPRT
104	4A4.H7-VH	EVQLQESGPPELVKPGASVKISCKASGYSTGYIHWVQSPEESLE WIGEIIYPNTGITTYNQKFTAKATLTVDKSSNTAYMQLKSLTSEDSA VYYCTRWGDYYGRDYWGQGTSTVTVSS
105	4A4.H7-VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASETVDTHGNFSFMHWYQQKPGQ PPKLLIYRASNLSESGIPARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYC QQSNEDPRTFGGGTKLEIK
106	4A4.H7-VL CDR1	RASETVDTHGNFSFMH
107	15A11.C8-VH	EVQLQESGGGLVKTGGSRKLSAASGFTFSDYGMHWRHTPEKGLE WVYIISGGNTIFYTDTVKGRFTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDTA VYFCVRQGYYYAMDYWGQGSVTVSS
108	15A11.C8-VL	DIQMTQTSSLSASLGDRVTIRCRASQDITNYLNWYQQKPDGAVKL LISYTSILQSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQGDVATYFCQQGS SLPWTFGGGTKLEIK
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

SEQ ID NO.	Descripción	SECUENCIA
115	12C9.E5-VH	EVQLQESGAELVRPGASVKLSCKASGYIFTDYEIHWVKQTPVHGLE WIGAIDPETGITAYSQKFKGKATLTDTSSSTAYMEFRSLTSEDSA VYYCTRGGLLYWGQGTSTVTVSS
116	12C9.E5-VL	DVVMQTQPLSLSVTIGQPASISCKSSQSLLYSDGETYLNWLQQRPG QSPKRLMYQVSKLDPGIPDRFSGSGSETDFTLKISRVEAEDLGIYY CLQGTFFYPHTFGGGTKLEIK
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	EVQLQESGPPELVKPGASVKISCKASGYSTGYIHWVKQSPEESLE WIGEIYPNTGITTYNQKFTAKATLTVDKSSNTAYMQLKSLTSEDSA VYYCTRWGDYGRDYWGQGTSTVTVSS
124	1A2.A3-VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASETVDTHGNSFMHWYQQKPGQ PPKLLIYRASNLSEGI PARFSGSGSRTDFTLTINPVEADDVATYYC QQSNEDPRTFGGGTKLEIK
125	4H2.E3-VH	EVQLQESGPPELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYLMHWMKQKPGQGLE WIGYINPYSDGIKYNEKFRDKATLTSDKSSNTAYMELSSLTSEDSA VYYCAHSSGYVGYAMDYWGQGTSTVTVSS
126	4H2.E3-VL	GIVMTQTTPSPVPVTPGESVSISCRSSKSLLSHNGNTYLYWFLQRP QSPQLLIYRMSNLASGVDPDRFSGSGSGTFTTLRISRVEADVGVYY CMQHLEYPFTFGSGTKLEIK
127	4H2.E3-VH CDR3	SSGYVGYAMDY
128	4H2.E3-VL CDR1	RSSKSLLSHNGNTYLY
129	4H2.E3-VL CDR2	RMSNLAS
130	4H2.E3-VL CDR3	MQHLEYPFT
131	14H8.E7-VH	EVQLQESGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTNYWINWLKQRPQGLE WIGNIYPGSTIINYNEKFKNKATLTVDTSSTAYMQLSSLTSDDSA VYYCARRVVYLYFDSWGQGTTLTVSS
132	14H8.E7-VH CDR1	GYTFTNY
133	14H8.E7-VH CDR2	YPGSTI
134	14H8.E7-VH CDR3	RVVYLYFDS
135	dominio extracelular de FLT3 humano maduro	NQDLFPVIKCVLINHKNNDSVSGKSSSYPMVSESPEDLGALRPQSS GTVYEA-AAVEVDVSASITLQVLVDAPGNISCLWVFKHSSLNCQPHF DLQNRGVVSMVILKMTETQAGEYLLFIQSEATNYTILFTVSIRNTL LYTLRRPYFRKMENQDALVCISESVPEPIVEWVLCDSDQGESCKEES PAVVKKEEKVLHELFGTDIRCCARNELGRECTRLFTIDLNQTPQTT LPQLFLKVGEPLWIRCKAVHVNHGFLTWELNKALEEGNYFEMST YSTNRTMIRILFAFVSSVARNDTGYYTCSSSKHPSQSALVTIVEKG FINATNSSSEDEYIDQYEEFCFSVRFKAYPQIRCTWTFSRKSFPCEQ KGLDNGYSISKFCNHKHQPGEYIFHAENDDAQFTKMFTLNIRRPQ VLAEASASQASCFSDGYPLPSWTWKKCSDKSPNCTEEITEGVWNRK ANRKVFGQWVSSSTLNMSEAIKGFVLKCCAYNSLGTSCETILLNSP GFPFPIQDNIS
136	Secuencia Fc de IgG1 humana de tipo salvaje	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSGF FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
137	Enlazador ((G4S)4)	GGGGSGGGSGGGSGGGGS
138	ADI-27705-VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTTLVTVSS

SEQ ID NO.	Descripción	SECUENCIA
139	ADI-27705-VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQYN SYPTITFGGGTKVEIK
140	ADI-27705-VH CDR1	GSFSGYYWS
141	ADI-27705-VH CDR2	EIDHSGSTNYPNPSLKS
142	ADI-27705-VH CDR3	ARARGPWSFDP
143	ADI-27724-VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTLLVTVSS
144	ADI-27724-VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPITFGGGTKVEIK
145	ADI-27740 (A40) - VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTLLVTVSS
146	ADI-27740 (A40) - VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSIGSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQYH SFYTFGGGTKEIK
147	ADI-27741-VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTLLVTVSS
148	ADI-27741-VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSIGSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQSN SYPTFGGGTKVEIK
149	ADI-27743-VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTLLVTVSS
150	ADI-27743-VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQYN SYPTFGGGTKVEIK
151	ADI-28153-VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWGFDPWGQGTLLVTVSS
152	ADI-28153-VL	ELQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQSISSYLNWYQQKPGQPPKL LIYWASTRESQVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDSATYYCQQSY DIPYTFGQGTKEIK
153	ADI-28226 (C26) - VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTLLVTVSS
154	ADI-28226 (C26) - VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQYG SFPITFGGGTKVEIK
155	ADI-28154-VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTLLVTVSS
156	ADI-28154-VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPDFFATYYCQQSK EVPWTFGQGTKEIK

SEQ ID NO.	Descripción	SECUENCIA
157	ADI-29399-VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTTLVTVSS
158	ADI-29399-VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQYN SFPTFGGGTKVEIK
159	ADI-29401-VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTTLVTVSS
160	ADI-29401-VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSIGSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQYD IYPTFGGGTKVEIK
161	ADI-29443 (F43) - VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSRYLAWYQQKPGQAPRL LIYDASNRTGIPARFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQFD TWPPTFGGGTKVEIK
162	ADI-29403-VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTTLVTVSS
163	ADI-29403-VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQYD SYPTFGGGTKVEIK
164	ADI-29405-VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTTLVTVSS
165	ADI-29405-VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQYG SFPTFGGGTKVEIK
166	ADI-29407-VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTTLVTVSS
167	ADI-29407-VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQYQ SFPTFGGGTKVEIK
168	ADI-29419-VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTTLVTVSS
169	ADI-29419-VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQYS SFSTFGGGTKVEIK
170	ADI-29421-VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTTLVTVSS
171	ADI-29421-VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQYE SYSTFGGGTKVEIK
172	ADI-29424-VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTTLVTVSS
173	ADI-29424-VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQYD SFITFGGGTKVEIK

SEQ ID NO.	Descripción	SECUENCIA
174	ADI-29425-VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTTLVTVSS
175	ADI-29425-VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQYQ SYPTFGGGTKVEIK
176	ADI-29426-VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTTLVTVSS
177	ADI-29426-VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSIGSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQYH SFPTFGGGTKVEIK
178	ADI-29429-VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTTLVTVSS
179	ADI-29429-VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSIGSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQYE LYSYTFGGGKVEIK
180	ADI-29447 (F47) - VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTTLVTVSS
181	ADI-29447 (F47) - VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQYD TFITFGGGTKVEIK
182	ADI-27727-VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLE WMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARGDSSIRHAYYYYGMDVWGQGTITVTVSS
183	ADI-27727-VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKP GQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVY YCQQYYSTPITFGGGTKVEIK
184	ADI-27727-VH CDR1 (no-Kabat)	GTFSSYAIS
185	ADI-27727-VH CDR1 (no-Kabat)	SYAIS
186	ADI-27727-VH CDR2	GIIPIFGTANYAQKFQG
187	ADI-27727-VL CDR1	KSSQSVLYSSNNKNYLA
188	ADI-27727-VL CDR2	WASTRES
189	ADI-27727-VH CDR3 (non-Kabat)	ARGDSSIRHAYYYYGMDV
190	ADI-27727-VH CDR3 (non-Kabat)	GDSSIRHAYYYYGMDV
191	ADI-27727-VL CDR3	QQYYSTPIT
192	ADI-29443 (F43) - VH	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKG LEWIGSIYYSGSTYNNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCARGSDRFHPYFDYWGQGTTLVTVSS
193	ADI-29443 (F43) - VH CDR1 (no-Kabat)	GSISSSSSYYWG

SEQ ID NO.	Descripción	SECUENCIA
194	ADI-29443 (F43) - VH CDR1 (no-Kabat)	SSSYWYG
195	ADI-29443 (F43) - VH CDR2	SIYYSGSTYYNPSLKS
196	ADI-29443 (F43) - VH CDR3 (no-Kabat)	ARGSDRFHPYFDY
197	ADI-29443 (F43) - VH CDR3 (no-Kabat)	GSDRFHPYFDY
198	ADI-29443 (F43) - VL CDR1	RASQSVSRYLA
199	ADI-29443 (F43) - VL CDR2	DASNRAT
200	ADI-29443 (F43) - VL CDR3	QQFDTWPPT
201	ADI-29404 (F04) - VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCARARGPWSFDPWGQGTTLVTVSS
202	ADI-29404 (F04) - VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPKAPKL LIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCEQYD SYPTFGGGTKVEIK
203	ADI-28200-VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSSYAI SWVRQAPGQGLE WMGGIIPFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTA VYYCARRGRKASGSFYFYYGMDVWGQGTTLVTVSS
204	ADI-28200-VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCESSQSLNSGNQKNYLTWYQQKP GQPPKPLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEADVAVY YCQNDYSYPYTFGQGTKLEIK
205	ADI-28200-VH CDR2	GIIPFGTANYAQKFQG
206	ADI-28200-VH CDR3	ARRGRKASGSFYFYYGMDV
207	ADI-28200-VH CDR1	ESSQSLNSGNQKNYLT
208	ADI-28200-VH CDR3	QNDYSYPYT
209	ADI-29379 (E79) - VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFSTSYMHVVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMESSLRSEDTA VYYCARGAPNYGDTTHDYFMDVWGKGTTLVTVSS
210	ADI-29379 (E79) - VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRL LIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYD DWPFTFGGGTKVEIK
211	ADI-29379 (E79) - VH CDR1 (no-Kabat)	YTFTSYMH
212	ADI-29379 (E79) - VH CDR1 (no-Kabat)	SYMH
213	ADI-29379 (E79) - VH CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQG

SEQ ID NO.	Descripción	SECUENCIA
214	ADI-29379 (E79) - VH CDR3 (no-Kabat)	ARGAPNYGDTTHDYYYMDV
215	ADI-29379 (E79) - VH CDR3 (no-Kabat)	GAPNYGDTTHDYYYMDV
216	ADI-29379 (E79) - VH CDR1	RASQSVSSNLA
217	ADI-29379 (E79) - VH CDR2	GASTRAT
218	ADI-29379 (E79) - VH CDR3	QQYDDWPFT
219	ADI-29463 (F63) - VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTGYIMHWVRQAPGQGLE WMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLSDDTA VYYCARDTGEYYDTDDHGMDVWGQGTITVTVSS
220	ADI-29463 (F63) - VL	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRL LIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQDD YWPPTFGGGTKVEIK
221	ADI-29463 (F63) - VH CDR1 (non-Kabat)	YTFTGYIMH
222	ADI-29463 (F63) - VH CDR1 (non-Kabat)	GYIMH
223	ADI-29463 (F63) - VH CDR2	WINPNSGGTNYAQKFQG
224	ADI-29463 (F63) - VH CDR3 (non-Kabat)	ARDTGEYYDTDDHGMDV
225	ADI-29463 (F63) - VH CDR3 (non-Kabat)	DTGEYYDTDDHGMDV
226	ADI-29463 (F63) - VL CDR1	RASQSVSSNLA
227	ADI-29463 (F63) - VL CDR3	QQDDYWPPT
228	ADI-27744 (A44) - VH	EVQLLESQGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLE WVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDGGYYDSGAGDYWGQGTITVTVSS
229	ADI-27744 (A44) - VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGIDSWLAWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGV SYPRTFGGGTKVEIK
230	ADI-27744 (A44) - VH CDR1 (no-Kabat)	FTFSSYAMS
231	ADI-27744 (A44) - VH CDR1 (no-Kabat)	SYAMS
232	ADI-27744 (A44) - VH CDR2	AISGSGGSTYYADSVKG
233	ADI-27744 (A44) - VH CDR3 (no-Kabat)	AKDGGYYDSGAGDY

SEQ ID NO.	Descripción	SECUENCIA
234	ADI-27744 (A44) - VH CDR3 (no-Kabat)	DGGYYDSGAGDY
235	ADI-27744 (A44) - VL CDR1	RASQGIDSWLA
236	ADI-27744 (A44) - VL CDR2	AASSLQS
237	ADI-27744 (A44) - VL CDR3	QQGVSYPRT
238	ADI-27749 (A49) - VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGAPMGAAAGWFDPWGQGTLVTVSS
239	ADI-27749 (A49) - VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISWLAQYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGV SFPRTFGGGTKVEIK
240	ADI-27749 (A49) - VH CDR1 (no-Kabat)	FTFSSYSMN
241	ADI-27749 (A49) - VH CDR1 (no-Kabat)	SYSMN
242	ADI-27749 (A49) - VH CDR2	SISSSSSYIYYADSVKG
243	ADI-27749 (A49) - VH CDR3 (no-Kabat)	ARGAPMGAAAGWFDP
244	ADI-27749 (A49) - VH CDR3 (no-Kabat)	GAPMGAAAGWFDP
245	ADI-27749 (A49) - VL CDR3	QQGVSFPRT
246	scFv (VL-VH) con Q44C en VH y G100C en VL de ADI-27749 (A49)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISWLAQYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGV SFPRTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGL VKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKCLEWVSSISSSSY IYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAPMG AAAGWFDPWGQGTLVTVSS
247	ADI-29378 (E78) - VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYMHWVRQAPGQGLE WMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTA VYYCAREGAGFAYGMDYYMDVWGKGTITVTVSS
248	ADI-29378 (E78) - VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRL LIYDASNRTATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQSD NWPFTFGGGTKVEIK
249	ADI-29378 (E78) - VH CDR2	IINPSGGSTSYAQKFQG
250	ADI-29378 (E78) - VH CDR3 (no-Kabat)	AREGAGFAYGMDYYMDV
251	ADI-29378 (E78) - VH CDR3 (no-Kabat)	EGAGFAYGMDYYMDV
252	ADI-29378 (E78) - VL CDR1	RASQSVSSYLA

SEQ ID NO.	Descripción	SECUENCIA
253	ADI-29378 (E78) - VL CDR3	QQSDNWPFT
254	A49MI-VH	EVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGAPIGAAAGWFDPWGQGTLVTVSS
255	A49MI-VH CDR3 (no-Kabat)	ARGAPIGAAAGWFDP
256	A49MI-VH CDR3 (no-Kabat)	GAPIGAAAGWFDP
257	A49MQ-VH	EVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGAPQGAAAGWFDPWGQGTLVTVSS
258	A49MQ-VH CDR3 (no-Kabat)	ARGAPQGAAAGWFDP
259	A49MQ-VH CDR3	GAPQGAAAGWFD
260	A49ML-VH	EVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGAPLGAAAGWFDPWGQGTLVTVSS
261	A49ML-VH CDR3 (no-Kabat)	ARGAPLGAAAGWFDP
262	A49ML-VH CDR3	GAPLGAAAGWFDP
263	A49MF-VH	EVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGAPFGAAAGWFDPWGQGTLVTVSS
264	A49MF-VH CDR3 (no-Kabat)	ARGAPFGAAAGWFDP
265	A49MF-VH CDR3	GAPFGAAAGWFDP
266	A49MV-VH	EVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGAPVGAAAGWFDPWGQGTLVTVSS
267	A49MV-VH CDR3 (no-Kabat)	ARGAPVGAAAGWFDP
268	A49MV-VH CDR3	GAPVGAAAGWFDP
269	A49-consenso-VH	EVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTA VYYCARGAPXGAAAGWFDPWGQGTLVTVSS, donde X es M, L, I, V, Q, o F,
270	A49-consenso-VH CDR3 (no-Kabat)	ARGAPXGAAAGWFDP, donde X es M, L, I, V, Q, o F
271	A49-consenso-VH CDR3	GAPXGAAAGWFDP, donde X es M, L, I, V, Q, o F
272	Ligando de NKG2D en US9,273,136-VH	QVQLVESGGGLVLPKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLE WVAFIRYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDRGLGDGTYFDYWGQGTITVTVSS
273	Ligando de NKG2D en US9,273,136-VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCSGSSSNIGNNAVNWYQQLPGKAPK LLIYYDDLPLSGVSDRFSKSGTSAFLAISGLQSEDEADYYCAAW DDSLNGPVFEGGGTKLTVL
274	Ligando de NKG2D en US7,879,985-VH	QVHLQESGPGVLKPSSETLSLTCTVSDDSISSYYWSWIRQPPGKGLE WIGHISYSGSANYNPSLKSRTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAV YYCANWDDAFNIWGQGTMTVTVSS

SEQ ID NO.	Descripción	SECUENCIA
275	Ligando de NKG2D en US7,879,985-VL	EIVLTQSPGTL ~~SL~~ SPGERATL ~~SC~~ RASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIK
276	A49MI-VL CDR1	RASQGISSWLA
277	GB102-VL-VH-Fc	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLES ~~GV~~ PDRFSGSGSGTDFTLTIS ~~SL~~ QAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQS ~~GA~~ EVKKPGASVKV ~~S~~ CKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQCLEWMGFINPYND ~~DT~~ KYNEKF ~~K~~ GRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWRQLGSLDSWGQGT ~~TV~~ TVSSGSDKTH ~~TC~~ PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP ~~PR~~ VYTLPPC ~~R~~ DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ~~TT~~ PPV ~~L~~ VS ~~D~~ GSF ~~T~~ LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
278	A49MI-VH-CH1-Fc	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLS ~~CA~~ ASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDN ~~AK~~ NSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAPIGAAAGWFD ~~P~~ WGQGT ~~LV~~ TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP ~~TV~~ SVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV ~~CT~~ LPSPSRDEL ~~T~~ ENQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ~~TT~~ PPV ~~L~~ SDGSFFLY ~~SW~~ LTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
279	A49MI-VL-CL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTIT ~~CR~~ ASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYA ~~ASS~~ LQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS ~~SL~~ QPEDFATYYCQQGVSEF ~~P~~ RTFGCGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC ~~LL~~ NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSS ~~TL~~ TL ~~SK~~ ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
280	A49-VL-VH-Fc	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTIT ~~CR~~ ASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYA ~~ASS~~ LQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTIS ~~SL~~ QPEDFATYYCQQGVSEF ~~P~~ RTFGCGTKVEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGEVQLVESGGGLVKPGGSLRLS ~~CA~~ ASGFTFSSYSMNWVRQAPGKCLEWVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTISRDN ~~AK~~ NSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAPMGAAAGWFD ~~P~~ WGQGT ~~LV~~ TVSSASDKTH ~~TC~~ PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP ~~PR~~ VYTLPPC ~~R~~ DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ~~TT~~ PPV ~~L~~ VS ~~D~~ GSF ~~T~~ LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
281	GB102-VH-CH1-Fc	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV ~~S~~ CKASGYTFTRYVMHWVRQAPGQGLEWMGFINPYND ~~DT~~ KYNEKF ~~K~~ GRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWRQLGSLDSWGQGT ~~TV~~ TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEP ~~TV~~ SVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV ~~CT~~ LPSPSRDEL ~~T~~ ENQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ~~TT~~ PPV ~~L~~ SDGSFFLY ~~SW~~ LTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
282	GB102-VL-CL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQPPKLLIYLASNLES ~~GV~~ PDRFSGSGSGTDFTLTIS ~~SL~~ QAEDVAVYYCQQNNEEPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC ~~LL~~ NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSS ~~TL~~ TL ~~SK~~ ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO.	Descripción	SECUENCIA
283	1553-VH-VL-Fc	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTFTSYWINWVRQAPGKCLE WMGNIYPGSSIIYNENFNKRVMTEDTSTDYAYMELSSLRSEDTA VYYCARRVYLYFDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHYQQKPGQAPRLL IYDTSKLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQWTS KSPTFGCGTKVEIKGSDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREP RV YTLPP CR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPV LV SDGS FT LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG
284	1689-VH-VL-Fc	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTFPYWINWVRQAPGKCLE WMGNIYPGSSIIYNENFNKRVMTEDTSTDYAYMELSSLRSEDTA VYYCARRNVYLTFDYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYIHWHYQQKPGQAPRLL IYDTSKLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQWTS KSPTFGCGTKVEIKGSDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREP RV YTLPP CR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPV LV SDGS FT LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG
285	GB102_M34I-VL-VH-Fc	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQ PPKLLIY L ASN LES GVPDRFSGSGSGTDFTLTIS SL QAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQS GAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWMGF INP YNDDTKYNEKFGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARW RQLGSLDSWGQGT T TVTVSSGSDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREP RV YTLPP CR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPV LV SDGS FT LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG
286	GB102_D101E-VL-VH-Fc	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQ PPKLLIY L ASN LES GVPDRFSGSGSGTDFTLTIS SL QAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQS GAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRY VM HWVRQAPGQCLEWMGF INP YNDDTKYNEKFGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARW RQLGS LES WGQGT T TVTVSSGSDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREP RV YTLPP CR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPV LV SDGS FT LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG
287	GB102_M34I_D101E-VL-VH-Fc	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQ PPKLLIY L ASN LES GVPDRFSGSGSGTDFTLTIS SL QAEDVAVYYC QQNNEEPWTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQS GAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTRYVIHWVRQAPGQCLEWMGF INP YNDDTKYNEKFGRVTITRDTSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARW RQLGS LES WGQGT T TVTVSSGSDKHTCTPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREP RV YTLPP CR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPV LV SDGS FT LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG
288	GB99-VL-VH-Fc	DIVMTQSPASLAVSLGERATINCRASESVDTYGSSSFVHWYQQKPGQ PPKLLIY L ASN LES GVPDRFSGSGSGTDFTLTIS SL QAEDAATYYC

SEQ ID NO.	Descripción	SECUENCIA
		<u>Q</u> <u>Q</u> <u>N</u> <u>N</u> <u>E</u> <u>E</u> <u>P</u> <u>W</u> <u>T</u> <u>F</u> <u>G</u> <u>C</u> <u>G</u> <u>T</u> <u>K</u> <u>V</u> <u>E</u> <u>I</u> <u>K</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>Q</u> <u>V</u> <u>Q</u> <u>L</u> <u>V</u> <u>Q</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>A</u> <u>E</u> <u>V</u> <u>K</u> <u>K</u> <u>P</u> <u>G</u> <u>A</u> <u>S</u> <u>V</u> <u>K</u> <u>V</u> <u>S</u> <u>C</u> <u>K</u> <u>A</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>Y</u> <u>T</u> <u>F</u> <u>T</u> <u>R</u> <u>Y</u> <u>V</u> <u>M</u> <u>H</u> <u>W</u> <u>V</u> <u>R</u> <u>Q</u> <u>A</u> <u>P</u> <u>G</u> <u>Q</u> <u>C</u> <u>L</u> <u>E</u> <u>W</u> <u>M</u> <u>G</u> <u>F</u> <u>I</u> <u>N</u> <u>P</u> <u>Y</u> <u>N</u> <u>D</u> <u>D</u> <u>T</u> <u>K</u> <u>Y</u> <u>N</u> <u>E</u> <u>K</u> <u>F</u> <u>K</u> <u>G</u> <u>R</u> <u>V</u> <u>T</u> <u>I</u> <u>T</u> <u>S</u> <u>D</u> <u>T</u> <u>S</u> <u>A</u> <u>S</u> <u>T</u> <u>A</u> <u>Y</u> <u>M</u> <u>E</u> <u>L</u> <u>S</u> <u>S</u> <u>L</u> <u>R</u> <u>S</u> <u>E</u> <u>D</u> <u>T</u> <u>A</u> <u>V</u> <u>Y</u> <u>H</u> <u>C</u> <u>A</u> <u>R</u> <u>W</u> <u>R</u> <u>Q</u> <u>L</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>L</u> <u>D</u> <u>S</u> <u>W</u> <u>G</u> <u>Q</u> <u>G</u> <u>T</u> <u>T</u> <u>V</u> <u>T</u> <u>V</u> <u>S</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>D</u> <u>K</u> <u>T</u> <u>H</u> <u>T</u> <u>C</u> <u>P</u> <u>P</u> <u>C</u> <u>A</u> <u>P</u> <u>E</u> <u>L</u> <u>L</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>P</u> <u>S</u> <u>V</u> <u>F</u> <u>L</u> <u>F</u> <u>P</u> <u>P</u> <u>K</u> <u>P</u> <u>K</u> <u>D</u> <u>T</u> <u>L</u> <u>M</u> <u>I</u> <u>S</u> <u>R</u> <u>T</u> <u>P</u> <u>E</u> <u>V</u> <u>T</u> <u>C</u> <u>V</u> <u>V</u> <u>D</u> <u>V</u> <u>S</u> <u>H</u> <u>E</u> <u>D</u> <u>P</u> <u>E</u> <u>V</u> <u>K</u> <u>F</u> <u>N</u> <u>W</u> <u>Y</u> <u>V</u> <u>D</u> <u>G</u> <u>V</u> <u>E</u> <u>V</u> <u>H</u> <u>N</u> <u>A</u> <u>K</u> <u>T</u> <u>K</u> <u>P</u> <u>R</u> <u>E</u> <u>E</u> <u>Q</u> <u>Y</u> <u>N</u> <u>S</u> <u>T</u> <u>Y</u> <u>R</u> <u>V</u> <u>V</u> <u>S</u> <u>V</u> <u>L</u> <u>T</u> <u>V</u> <u>L</u> <u>H</u> <u>Q</u> <u>D</u> <u>W</u> <u>L</u> <u>N</u> <u>G</u> <u>K</u> <u>E</u> <u>Y</u> <u>K</u> <u>C</u> <u>K</u> <u>V</u> <u>S</u> <u>N</u> <u>K</u> <u>A</u> <u>L</u> <u>P</u> <u>A</u> <u>P</u> <u>I</u> <u>E</u> <u>K</u> <u>T</u> <u>I</u> <u>S</u> <u>K</u> <u>A</u> <u>K</u> <u>G</u> <u>Q</u> <u>P</u> <u>R</u> <u>E</u> <u>P</u> <u>R</u> <u>V</u> <u>Y</u> <u>T</u> <u>L</u> <u>P</u> <u>P</u> <u>C</u> <u>R</u> <u>D</u> <u>E</u> <u>L</u> <u>T</u> <u>K</u> <u>N</u> <u>Q</u> <u>V</u> <u>S</u> <u>L</u> <u>T</u> <u>C</u> <u>L</u> <u>V</u> <u>K</u> <u>G</u> <u>F</u> <u>Y</u> <u>P</u> <u>S</u> <u>D</u> <u>I</u> <u>A</u> <u>V</u> <u>E</u> <u>W</u> <u>E</u> <u>S</u> <u>N</u> <u>G</u> <u>Q</u> <u>P</u> <u>E</u> <u>N</u> <u>N</u> <u>Y</u> <u>K</u> <u>T</u> <u>T</u> <u>P</u> <u>P</u> <u>V</u> <u>L</u> <u>V</u> <u>S</u> <u>D</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>F</u> <u>T</u> <u>L</u> <u>Y</u> <u>S</u> <u>K</u> <u>L</u> <u>T</u> <u>V</u> <u>D</u> <u>K</u> <u>S</u> <u>R</u> <u>W</u> <u>Q</u> <u>Q</u> <u>G</u> <u>N</u> <u>V</u> <u>F</u> <u>S</u> <u>C</u> <u>S</u> <u>V</u> <u>M</u> <u>H</u> <u>E</u> <u>A</u> <u>L</u> <u>H</u> <u>N</u> <u>H</u> <u>Y</u> <u>T</u> <u>Q</u> <u>K</u> <u>S</u> <u>L</u> <u>S</u> <u>L</u> <u>S</u> <u>P</u> <u>G</u>
289	GB89-VH-VL-Fc	<u>Q</u> <u>V</u> <u>Q</u> <u>L</u> <u>V</u> <u>Q</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>A</u> <u>E</u> <u>V</u> <u>K</u> <u>K</u> <u>P</u> <u>G</u> <u>A</u> <u>S</u> <u>V</u> <u>K</u> <u>V</u> <u>S</u> <u>C</u> <u>K</u> <u>A</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>Y</u> <u>T</u> <u>F</u> <u>T</u> <u>R</u> <u>Y</u> <u>V</u> <u>M</u> <u>H</u> <u>W</u> <u>V</u> <u>R</u> <u>Q</u> <u>A</u> <u>P</u> <u>G</u> <u>Q</u> <u>C</u> <u>L</u> <u>E</u> <u>W</u> <u>M</u> <u>G</u> <u>F</u> <u>I</u> <u>N</u> <u>P</u> <u>Y</u> <u>N</u> <u>D</u> <u>D</u> <u>T</u> <u>K</u> <u>Y</u> <u>N</u> <u>E</u> <u>K</u> <u>F</u> <u>K</u> <u>G</u> <u>R</u> <u>V</u> <u>T</u> <u>I</u> <u>T</u> <u>S</u> <u>D</u> <u>T</u> <u>S</u> <u>A</u> <u>S</u> <u>T</u> <u>A</u> <u>Y</u> <u>M</u> <u>E</u> <u>L</u> <u>S</u> <u>S</u> <u>L</u> <u>R</u> <u>S</u> <u>E</u> <u>D</u> <u>T</u> <u>A</u> <u>V</u> <u>Y</u> <u>Y</u> <u>C</u> <u>A</u> <u>R</u> <u>W</u> <u>R</u> <u>Q</u> <u>L</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>L</u> <u>D</u> <u>S</u> <u>W</u> <u>G</u> <u>Q</u> <u>G</u> <u>T</u> <u>T</u> <u>V</u> <u>T</u> <u>V</u> <u>S</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>D</u> <u>I</u> <u>V</u> <u>M</u> <u>T</u> <u>Q</u> <u>S</u> <u>P</u> <u>A</u> <u>S</u> <u>L</u> <u>A</u> <u>V</u> <u>S</u> <u>L</u> <u>G</u> <u>E</u> <u>R</u> <u>A</u> <u>T</u> <u>I</u> <u>N</u> <u>C</u> <u>R</u> <u>A</u> <u>S</u> <u>E</u> <u>S</u> <u>V</u> <u>D</u> <u>T</u> <u>Y</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>S</u> <u>F</u> <u>V</u> <u>H</u> <u>W</u> <u>Y</u> <u>Q</u> <u>Q</u> <u>K</u> <u>P</u> <u>G</u> <u>Q</u> <u>P</u> <u>P</u> <u>K</u> <u>L</u> <u>L</u> <u>I</u> <u>Y</u> <u>L</u> <u>A</u> <u>S</u> <u>N</u> <u>L</u> <u>E</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>V</u> <u>P</u> <u>D</u> <u>R</u> <u>F</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>R</u> <u>T</u> <u>D</u> <u>F</u> <u>T</u> <u>L</u> <u>T</u> <u>I</u> <u>S</u> <u>S</u> <u>L</u> <u>Q</u> <u>A</u> <u>E</u> <u>D</u> <u>A</u> <u>A</u> <u>T</u> <u>Y</u> <u>Y</u> <u>C</u> <u>Q</u> <u>Q</u> <u>N</u> <u>N</u> <u>E</u> <u>E</u> <u>P</u> <u>W</u> <u>T</u> <u>F</u> <u>G</u> <u>C</u> <u>G</u> <u>T</u> <u>K</u> <u>V</u> <u>E</u> <u>I</u> <u>K</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>D</u> <u>K</u> <u>T</u> <u>H</u> <u>T</u> <u>C</u> <u>P</u> <u>P</u> <u>C</u> <u>A</u> <u>P</u> <u>E</u> <u>L</u> <u>L</u> <u>G</u> <u>G</u> <u>P</u> <u>S</u> <u>V</u> <u>F</u> <u>L</u> <u>F</u> <u>P</u> <u>P</u> <u>K</u> <u>P</u> <u>K</u> <u>D</u> <u>T</u> <u>L</u> <u>M</u> <u>I</u> <u>S</u> <u>R</u> <u>T</u> <u>P</u> <u>E</u> <u>V</u> <u>T</u> <u>C</u> <u>V</u> <u>V</u> <u>D</u> <u>V</u> <u>S</u> <u>H</u> <u>E</u> <u>D</u> <u>P</u> <u>E</u> <u>V</u> <u>K</u> <u>F</u> <u>N</u> <u>W</u> <u>Y</u> <u>V</u> <u>D</u> <u>G</u> <u>V</u> <u>E</u> <u>V</u> <u>H</u> <u>N</u> <u>A</u> <u>K</u> <u>T</u> <u>K</u> <u>P</u> <u>R</u> <u>E</u> <u>E</u> <u>Q</u> <u>Y</u> <u>N</u> <u>S</u> <u>T</u> <u>Y</u> <u>R</u> <u>V</u> <u>V</u> <u>S</u> <u>V</u> <u>L</u> <u>T</u> <u>V</u> <u>L</u> <u>H</u> <u>Q</u> <u>D</u> <u>W</u> <u>L</u> <u>N</u> <u>G</u> <u>K</u> <u>E</u> <u>Y</u> <u>K</u> <u>C</u> <u>K</u> <u>V</u> <u>S</u> <u>N</u> <u>K</u> <u>A</u> <u>L</u> <u>P</u> <u>A</u> <u>P</u> <u>I</u> <u>E</u> <u>K</u> <u>T</u> <u>I</u> <u>S</u> <u>K</u> <u>A</u> <u>K</u> <u>G</u> <u>Q</u> <u>P</u> <u>R</u> <u>E</u> <u>P</u> <u>R</u> <u>V</u> <u>Y</u> <u>T</u> <u>L</u> <u>P</u> <u>P</u> <u>C</u> <u>R</u> <u>D</u> <u>E</u> <u>L</u> <u>T</u> <u>K</u> <u>N</u> <u>Q</u> <u>V</u> <u>S</u> <u>L</u> <u>T</u> <u>C</u> <u>L</u> <u>V</u> <

[illegible]

SEQ ID NO.	Descripción	SECUENCIA
		PAVVKKEEKVLHELFGMDIRCCARNELGRECTRLFTIDLNQTPQTT LPQLFLKVGEPLWIRCKAVHVNHGFLTWELENKALEEGNYFEMST YSTNRTMIRILFAFVSSVARNDTGYYTCSSSKHPSQSALVTIVEKG FINATNSSSEDYEIDQYEEFCFSVRFKAYPQIRCTWTFSRKSFPCEQ KGLDNGYSISKFCNHHKHQPGEYIFHAENDDAQFTKMFTLNIRRKPO VLAEASASQASCFSDGYPLPSWTWKKCSKSPNCTEEITEGVWNRK ANRKVFGQWVSSSTLNMSEAIKGLVKCCAYNSLGTSCETILLNSP GPFPPFIQDNIS
319	Región extracelular de hFLT3-ITD	NQDLFVIKCVLINHKNNDSSVGKSSSYPMVSESPEDLGCALRPQSS GTVYEAAAVEVDVSASITLQVLVDAPGNISCLWVFKHSSLNCQPHF DLQNRGVVSMVILKMTETQAGEYLLFIQSEATNYTILFTVSIIRNTL LYTLRRPYFRKMENQDALVCISESVPEPIVEWVLCDSQGESCKEES PAVVKKEEKVLHELFGTDIRCCARNELGRECTRLFTIDLNQTPQTT LPQLFLKVGEPLWIRCKAVHVNHGFLTWELENKALEEGNYFEMST YSTNRTMIRILFAFVSSVARNDTGYYTCSSSKHPSQSALVTIVEKG FINATNSSSEDYEIDQYEEFCFSVRFKAYPQIRCTWTFSRKSFPCEQ KGLDNGYSISKFCNHHKHQPGEYIFHAENDDAQFTKMFTLNIRRKPO VLAEASASQASCFSDGYPLPSWTWKKCSKSPNCTEEITEGVWNRK ANRKVFGQWVSSSTLNMSEAIKGLVKCCAYNSLGTSCETILLNSP GPFPPFIQDNIS

REIVINDICACIONES:

1. Una proteína que comprende:

(a) un primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D;

(b) un segundo sitio de unión a antígeno que se une a FLT3; y

(c) un dominio Fc de anticuerpo o una porción del mismo suficiente para unirse a CD16, o un tercer sitio de unión a antígeno que se une a CD16,

en donde el segundo sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 comprende:

(i) 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 Nos: 11, 4 y 55, respectivamente; y un dominio variable de cadena ligera (VL) que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 6, 7 y 8, respectivamente;

(ii) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 59, 63 y 54, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 86, 66 y 67, respectivamente;

(iii) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 87, 88 y 89, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 91, 92 y 93, respectivamente;

(iv) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 97, 99 y 100, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 101, 102 y 103, respectivamente;

(v) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 87, 98 y 89, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 106, 92 y 93, respectivamente;

(vi) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 109, 110 y 111, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 112, 113 y 114, respectivamente;

(vii) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 117, 118 y 119, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 120, 121 y 122, respectivamente;

(viii) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 87, 98 y 89, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 106, 92 y 93, respectivamente;

(ix) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 62, 33 y 127, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 128, 129 y 130, respectivamente; o

(x) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 132, 133 y 134, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 65, 66 y 46, respectivamente.

2. La proteína de la reivindicación 1, en donde el segundo sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 11, 4 y 55, respectivamente; y una VL que

comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente.

3. La proteína de la reivindicación 2, en donde el segundo sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 11, 4 y 5, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente.

4. La proteína de la reivindicación 2, en donde el segundo sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 11, 4 y 50, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 6, 7 y 8, respectivamente.

5. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 2-4, en donde la VH comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90% idéntica a SEQ ID NO:37, y la VL comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90% idéntica a SEQ ID NO:38.

6. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 2-5, en donde la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53, y la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:42.

7. La proteína de la reivindicación 6, en donde la VH y la VL comprende 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.

8. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 2-7, en donde el segundo sitio de unión al antígeno está presente como un fragmento variable de cadena sencilla (scFv), y en donde el scFv comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada 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, y 52.

9. La proteína de la reivindicación 1, en donde el segundo sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 59, 63, y 54, respectivamente; y una VL que

comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 86, 66, y 67, respectivamente.

10. La proteína de la reivindicación 9, en donde el segundo sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 78, 63, 79, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 80, 66, 67, respectivamente.

11. La proteína de la reivindicación 9, en donde el segundo sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 62, 63, 64, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 65, 66, 67, respectivamente.

12. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 9-11, en donde la VH comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90% idéntica a SEQ ID NO:76, y la VL comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90% idéntica a SEQ ID NO:77.

13. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 9-12, en donde la VH comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29, y la VL comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:84.

14. La proteína de la reivindicación 13, en donde la VH y la VL comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 68 y 69; 72 y 73; o 76 y 77, respectivamente.

15. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 9-14, en donde el segundo sitio de unión al antígeno está presente como un scFv, y en donde el scFv comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NOs: 70, 71, 74, 75, 81 y 82

16. La proteína de la reivindicación 1, en donde el segundo sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 87, 88, y 89, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 91, 92, y 93, respectivamente.

17. La proteína de la reivindicación 1, en donde el segundo sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 97, 99, y 100, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 101, 102, y 103, respectivamente.

18. La proteína de la reivindicación 1, en donde el segundo sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 87, 98 y 89, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 106, 92, y 93, respectivamente.

19. La proteína de la reivindicación 1, en donde el segundo sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 109, 110, y 111, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 112, 113, y 114, respectivamente.

20. La proteína de la reivindicación 1, en donde el segundo sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 117, 118, y 119, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 120, 121, y 122, respectivamente.

21. La proteína de la reivindicación 1, en donde el segundo sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 87, 98, y 89, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 106, 92, y 93, respectivamente.

22. La proteína de la reivindicación 1, en donde el segundo sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 62, 33, y 127, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 128, 129, y 130, respectivamente.

23. La proteína de la reivindicación 1, en donde el segundo sitio de unión al antígeno que se une a FLT3 comprende una VH que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 132, 133, y 134, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2, y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 65, 66, y 46, respectivamente.
24. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el segundo sitio de unión al antígeno se une a FLT3 humano con una constante de disociación (K_D) menor o igual a 20 nM medida por la resonancia de plasmón superficial (SPR).
25. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 2-8, 16, 17, y 21, en donde el segundo sitio de unión al antígeno se une a FLT3 humano con una K_D menor o igual a 10 nM medida por SPR.
26. El sitio de unión al antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 2-8, en donde el sitio de unión al antígeno se une a una variante de FLT3 humano que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:318.
27. El sitio de unión al antígeno de cualquiera de las reivindicaciones 2-8, en donde el sitio de unión al antígeno se une a una variante de FLT3 humano que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:319.
28. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 2-21 y 23-27, en donde el sitio de unión a antígeno se une a FLT3 cynomolgus.
29. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 2-20 y 22-28, en donde el sitio de unión a antígeno no compite con FLT3L por la unión a FLT3.
30. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la proteína comprende un dominio Fc de anticuerpo o una porción del mismo suficiente para unirse a CD16.
31. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 1-30, en donde el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D es un fragmento Fab, y el segundo sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 es un scFv.

32. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 1-30, en donde el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D es un scFv, y el segundo sitio de unión a antígeno que se une a FLT3 es un fragmento Fab.
33. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además un sitio de unión al antígeno adicional que se une a FLT3.
34. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 1-30 y 32-33, en donde el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D es un scFv, y el segundo y los sitios de unión al antígeno adicionales que se unen a FLT3 son cada uno un fragmento Fab.
35. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 1-30 y 33, en donde el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D es un scFv, y el segundo y los sitios de unión al antígeno adicionales que se unen a FLT3 son cada uno un scFv.
36. La proteína de la reivindicación 31, 32, 34, o 35, en donde el scFv que se une a FLT3 y/o el scFv que se une a NKG2D comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera.
37. La proteína de la reivindicación 36, en donde el scFv está enlazado a un dominio constante de anticuerpo o una porción del mismo suficiente para unirse a CD16, a través de una bisagra que comprende Ala-Ser o Gly-Ser.
38. La proteína de la reivindicación 37, en donde la bisagra comprende además la secuencia de aminoácidos Thr-Lys-Gly.
39. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 36-38, en donde el dominio variable de cadena pesada del scFv forma un puente disulfuro con el dominio variable de cadena ligera del scFv.
40. La proteína de la reivindicación 39, en donde el puente disulfuro se forma entre C44 del dominio variable de cadena pesada y C100 del dominio variable de cadena ligera, numerados bajo el esquema de numeración de Kabat.
41. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 36-40, en donde el dominio variable de cadena pesada del scFv está enlazado con el dominio variable de cadena ligera del scFv a través de un enlazador flexible.

42. La proteína de la reivindicación 41, en donde el enlazador flexible comprende (G₄S)₄.

43. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 36-42, en donde dentro del scFv el dominio variable de cadena pesada está posicionado en el extremo C del dominio variable de cadena ligera.

44. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 36-42, en donde dentro del scFv el dominio variable de cadena pesada está posicionado en el extremo N del dominio variable de cadena ligera.

45. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 31-34 y 36-44, en donde el Fab no está posicionado entre un sitio de unión al antígeno y el Fc o la porción del mismo.

46. La proteína según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el primer sitio de unión al antígeno que se une a NKG2D comprende una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3, que comprenden las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 240 o 241, 242 y 270 o 271, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente.

47. La proteína de la reivindicación 46, en donde el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende:

(i) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 240 o 241, 242 y 255 o 256, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente; o

(ii) una VH que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 240 o 241, 242 y 243 o 244, respectivamente; y una VL que comprende CDR1, CDR2 y CDR3 que comprende las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NOs: 276, 236 y 245, respectivamente.

48. La proteína de la reivindicación 46 o 47, en donde la VH del primer sitio de unión a antígeno comprende una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos un 90 % a la SEQ ID NO: 254, y la VL del primer sitio de unión a antígeno comprende una secuencia de aminoácidos idéntica en al menos un 90 % a la SEQ ID NO: 239.

49. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 46-48, en donde la VH del primer sitio de unión al antígeno comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:254, y la VL del primer sitio de unión al antígeno comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:239.

50. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el dominio Fc del anticuerpo es un dominio Fc de anticuerpo IgG1 humano.

51. La proteína de la reivindicación 50, en donde el dominio Fc del anticuerpo o la porción del mismo comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90% idéntica a SEQ ID NO:136.

52. La proteína de la reivindicación 50 o 51, en donde al menos una cadena polipeptídica del dominio Fc del anticuerpo comprende una o más mutaciones, relativas a SEQ ID NO:136, 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 según el sistema de numeración de la UE.

53. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 50-52, en donde aproximadamente una cadena polipeptídica del dominio Fc del anticuerpo comprende una o más sustituciones, en relación con SEQ ID NO:136, 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, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

54. La proteína de cualquiera de las reivindicaciones 50-53, en donde una cadena polipeptídica de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende una o más mutaciones, en relación con SEQ ID NO:136, 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; la otra cadena polipeptídica de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende una o más mutaciones, en relación con SEQ ID NO:136, 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 según el sistema de numeración de la UE.

55. La proteína de la reivindicación 54, en donde una cadena polipeptídica de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende las sustituciones K360E y K409W en relación con SEQ ID NO:136; y la otra cadena polipeptídica de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende las sustituciones Q347R, D399V y F405T en relación con SEQ ID NO:136, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

56. La proteína de la reivindicación 54 o 55, en donde una cadena polipeptídica de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende una sustitución Y349C relativa a SEQ ID NO:136; y la otra cadena polipeptídica de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende una sustitución S354C con respecto a la SEQ ID NO: 136, numerada según el sistema de numeración de la UE.

57. Una proteína que comprende:

(a) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:278;

(b) un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:279; y

(c) un tercer polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 277, 283, 284, 285, 286, 287, 288, y 289.

58. Una proteína que comprende:

(a) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:280;

(b) un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:281; y

(c) un tercer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:282.

59. Una composición farmacéutica que comprende una proteína de cualquiera de las reivindicaciones anteriores y un portador farmacéuticamente aceptable.

60. Una célula que comprende uno o más ácidos nucleicos que codifican una proteína de cualquiera de las reivindicaciones. 1-58.
61. Un método para potenciar la muerte de células tumorales, el método que comprende exponer la célula tumoral y una célula asesina natural a una cantidad efectiva de la proteína de cualquiera de las reivindicaciones 1-58 o la composición farmacéutica de la reivindicación 59.
62. Un método para tratar el cáncer, el método que comprende administrar una cantidad efectiva de la proteína de cualquiera de las reivindicaciones 1-58 o la composición farmacéutica de la reivindicación 59 a un paciente que lo necesite.
63. El método de la reivindicación 62, en donde el cáncer es una neoplasia hematológica.
64. El método de la reivindicación 63, en donde la malignidad hematologica es la leucemia.
65. El método de la reivindicación 63 o 64, en donde se selecciona del grupo que consta de leucemia mieloide aguda (AML), leucemia linfoblástica aguda (ALL), mielodisplasia, leucemia linfoblástica T aguda y leucemia promielocítica aguda.
66. El método de cualquiera de las reivindicaciones 62-65, en donde el cáncer expresa FLT3.

PROTEÍNAS QUE SE UNEN A NKG2D, CD16 Y FLT3

RESUMEN

Se describen proteínas de unión multiespecíficas que se unen al receptor NKG2D, CD16 y FLT3, así como composiciones farmacéuticas y métodos terapéuticos útiles para el tratamiento de enfermedades autoinmunes o cáncer.