

MOLÉCULAS DE FUSIÓN DEL ECD DE SIGLEC-9 Y MÉTODOS DE USO DE ESTAS

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

[001] La presente solicitud reivindica el beneficio de prioridad de las Solicitudes Provisionales Estadounidenses números 62/930,227, presentada el 4 de noviembre de 2019, 63/014,940, presentada el 24 de abril de 2020, y 63/092,753, presentada el 16 de octubre de 2020, todas ellas se incorporan en la presente mediante referencia para cualquier propósito.

CAMPO

[002] La presente descripción se refiere a moléculas de fusión del ECD de Siglec-9 y usos terapéuticos de tales proteínas de fusión.

ANTECEDENTES

[003] La lectina 9 similar a Ig que se une al ácido siálico (Siglec-9) es una proteína transmembrana tipo 1 similar a inmunoglobulina que se expresa en células inmunitarias y hematopoyéticas, incluidas células mieloides inmaduras y maduras, tales como monocitos, macrófagos, células dendríticas, neutrófilos. y microglía, así como células linfoides, tales como células asesinas naturales y subconjuntos de linfocitos T (Crocker et ál. (2007) Nat Rev Immunol. 7:255–266; O'Reilly y Paulson (2009) Trends in Pharm. Sci. 30:5:240-248; y Macauley et ál. (2014) Nat. Rev. Imm. 14: 653-666). Siglec-9 es un miembro de la familia Siglec de lectinas que se unen a residuos de ácido siálico de glicoproteínas y glicolípidos. Los ligandos potenciales para las proteínas Siglec son los gangliósidos, que son glicolípidos que comprenden una ceramida unida a un glicano sialilado. La diversidad en los ligandos Siglec se genera mediante la adición de otros azúcares neutros y ácido siálico en diferentes enlaces, ramificados o terminales, y la modificación del propio ácido siálico.

[004] Se han identificado catorce proteínas Siglec en seres humanos y nueve en ratones que se componen de 2-17 dominios de Ig extracelulares, incluido un dominio de tipo Ig V-set (IgV) amino-terminal que contiene el sitio de unión del ácido siálico. El dominio IgV contiene dos residuos aromáticos y una arginina en un motivo que está altamente conservado en todas las Siglec (Crocker et ál. (2007) Nat Rev Immunol. 7:255–266; McMillan y Crocker (2008) Carbohydr Res. 343:2050-2056; Von Gunten y Bochner (2008)

Ann NY Acad Sci. 1143:61–82; May et ál. (1998) Mol Cell. 1:719–728; Crocker et ál. (1999) Biochem J. 341:355–361; y Crocker y Varki (2001) Trends Immunol. 2:337–342). Los sitios de unión del ligando han sido mapeados por estructuras cristalinas con y sin ligando unido (Attrill et ál., (2006) J. Biol. Chem. 281 32774-32783; Alphey et ál. (2003) J. Biol. Chem. 278:5 3372-3377; Varki et ál., Glycobiology, 16 pp. 1R–27R; y May et ál. (1998) Mol. Cell 1:5:719-728). Debido a que las membranas celulares son ricas en ácidos siálicos, la unión de ligandos de Siglec puede ocurrir en cis y en trans, lo que afecta sus propiedades funcionales. Cada Siglec tiene una preferencia distinta para unirse a los diversos tipos de glicanos sialilados que se encuentran en la superficie de las células de mamíferos (Crocker et ál. 10 (2007) Nat Rev Immunol. 7:255–266; y Crocker et ál. (2007) Nat Rev Immunol. 7:255–266).

[005] La mayoría de las proteínas Siglec, incluida la Siglec-9, son receptores inhibidores que contienen una o más secuencias de motivos inhibidores inmunorreceptores basados en tirosina (ITIM) en sus dominios citoplasmáticos. Los Siglec inhibidores actúan como reguladores negativos de la función inmunológica (Crocker et ál. (2007) Nat Rev Immunol. 15 7:255–266; McMillan y Crocker (2008) Carbohydr Res. 343:2050–2056; y Von Gunten y Bochner (2008) Ann NY Acad Sci. 1143:61–82). Otros Siglec son receptores de activación que contienen secuencias de motivos de activación inmunorreceptores basados en tirosina (ITAM) en sus dominios citoplasmáticos. Estas Siglec actúan como reguladores positivos de la función inmunitaria (Macauley SM. et ál., (2014) *Nature Reviews Immunology* 14, 653–20 666).

[006] La familia de proteínas Siglec juega un papel en la patogénesis tumoral. Muchos tumores humanos regulan por incremento de manera potente los ligandos de ácido siálico que se unen a Siglec-9, lo que puede permitir la evasión inmunitaria y la evolución del cáncer (Jandus et ál. (2014) J. Clin. Invest. 124:1810-1820). Por el contrario, los tumores que carecen de biosíntesis de ácido siálico tienen un crecimiento reducido en ratones (Stanczak et ál. (2018) J Clin Invest. 128:4912-4923). Ciertos SNP en Siglec-3, 7, 9 están asociados con un riesgo reducido de cáncer colorrectal y de pulmón (*Id.*).

[007] Todas las referencias mencionadas en la presente, incluidas publicaciones y solicitudes de patente, se incorporan a la presente en su totalidad mediante esta referencia.

COMPENDIO

[008] La presente descripción se refiere generalmente a proteínas de fusión de dominio

extracelular (ECD) Siglec-9 y métodos para tratar el cáncer y enfermedades neurodegenerativas mediante el uso de proteínas de fusión del ECD de Siglec-9.

[009] En algunas modalidades, un polipéptido aislado que comprende un dominio Siglec-9 IgV que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 109-137 y 214-226. En algunas modalidades, el polipéptido comprende un dominio extracelular (ECD) Siglec-9 que comprende el dominio Siglec-9 IgV, un dominio C2 tipo 1 (C2T1) y un dominio C2 tipo 2 (C2T2). En algunas modalidades, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 79-107 y 194-206. En algunas modalidades, el polipéptido del dominio Siglec-9 IgV no comprende la región próxima a la membrana de Siglec-9, como se muestra en la SEQ ID NO: 147 (MPR).

[0010] En algunas modalidades, el polipéptido comprende además un dominio Fc. En algunas de estas modalidades, el dominio Fc está ubicado en el extremo C del polipéptido. En algunas modalidades, el dominio Fc tiene un isotipo IgG1. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de las SEQ ID NO: 142-144 y 234-239. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 142 o 143. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 142. En algunas modalidades, el polipéptido aislado comprende un dominio Fc con un isotipo de IgG1 humana que tiene (a) unión reducida a FcγRIII; (b) citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) reducida y/o actividad de unión al complemento reducida; (c) unión aumentada a FcγRIIa; o cualquier combinación de a), b) y/o c), con respecto al polipéptido IgG1 de la SEQ ID No: 142. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 143. En algunas modalidades, el dominio Fc tiene un isotipo IgG4. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de entre las SEQ ID NO: 145-146.

[0011] En algunas modalidades, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 11-39, 148-160 y 168-170. En algunas modalidades, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 49-77, 171-183 y 191-193. En algunas modalidades, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 49-77 y 171-193, que carece de su péptido señal.

[0012] En algunas modalidades, se proporciona un polipéptido aislado que comprende un

dominio IgV Siglec-9, que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 138. En algunas modalidades, se proporciona un polipéptido aislado que comprende un dominio IgV de Siglec-9, que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 138 que comprende además un dominio Fc, ubicado opcionalmente en el extremo C del polipéptido.

- 5 Opcionalmente, el dominio Fc tiene un isotipo de IgG1 humana. En algunos casos, el polipéptido comprende además una secuencia enlazadora. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de entre las SEQ ID NO:142-144. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 142 o 143. En algunas modalidades, el polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 139. En algunas modalidades, el dominio Fc tiene un isotipo IgG4. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de las SEQ ID NO: 145-146.

- [0013]** En algunas modalidades, se proporciona un polipéptido aislado que comprende un dominio IgV de Siglec-9, que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 78
15 unida en su extremo C a un dominio Fc. En algunas modalidades, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:10. En algunas modalidades, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:227. En algunas modalidades, el dominio Fc tiene un isotipo IgG1. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de las SEQ ID NO: 142-144 y 234-239. En
20 algunas modalidades, el dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 142 o 143. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 142. En algunas modalidades, el polipéptido aislado comprende un dominio Fc con un isotipo de IgG1 humana que tiene (a) unión reducida a FcγRIII; (b) citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) reducida y/o actividad
25 de unión al complemento reducida; (c) unión aumentada a FcγRIIa; o cualquier combinación de a), b) y/o c), con respecto al polipéptido IgG1 de la SEQ ID NO: 142. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 143. En algunas modalidades, el dominio Fc tiene un isotipo IgG4. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de las SEQ ID
30 NO: 145-146. En algunas modalidades, se proporciona un polipéptido aislado que comprende un dominio IgV de Siglec-9, que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 45-48 y 228-233, que carece de su péptido

señal asociado. En algunas modalidades, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 45-48 y 228-233. En algunas modalidades, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 45, que carece de su péptido señal asociado. En algunas modalidades, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 45. En algunas modalidades, el polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 48, que carece de su péptido señal asociado.

[0014] En algunas modalidades, se proporciona un polipéptido aislado que comprende un dominio IgV de Siglec-9, que comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 207-213 y un dominio Fc ubicado en el extremo C del polipéptido. En algunas modalidades, el dominio Fc tiene un isotipo IgG1. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de las SEQ ID NO: 142-144 y 234-239. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 142 o 143. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 142. En algunas modalidades, el polipéptido aislado comprende un dominio Fc con un isotipo de IgG1 humana que tiene (a) unión reducida a FcγRIII; (b) citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) reducida y/o actividad de unión al complemento reducida; (c) unión aumentada a FcγRIIIa; o cualquier combinación de a), b) y/o c), con respecto al polipéptido IgG1 de la SEQ ID NO: 142. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 143. En algunas modalidades, el dominio Fc tiene un isotipo IgG4. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende una secuencia de aminoácidos que se selecciona de las SEQ ID NO: 145-146. En algunas modalidades, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 161-167. En algunas modalidades, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 184-190, que carece del péptido señal. En algunas modalidades, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 184-190.

[0015] En cualquiera de las modalidades de un polipéptido aislado que comprende un dominio IgV de Siglec-9 proporcionado en la presente, el polipéptido puede unirse al ácido siálico en la superficie de las células. En algunas de estas modalidades, las células son células tumorales. En algunas modalidades, las células expresan FcR, por ejemplo,

FcRγIIA. En algunas modalidades, las células son células mieloides. En algunas modalidades, las células mieloides se seleccionan de monocitos, macrófagos, células dendríticas, microglía y células supresoras derivadas de mieloides (MDSC).

[0016] En cualquiera de las modalidades de un polipéptido aislado que comprende un dominio IgV de Siglec-9 proporcionado en la presente, el polipéptido:

- a) bloquea la unión celular de uno cualquiera o más miembros de la familia Siglec seleccionados de Siglec-3, Siglec-5, Siglec-7, Siglec-9, Siglec-10 y Siglec-15;
- b) alivia la supresión de linfocitos T mediada por MDSC, opcionalmente según se determina al medir un aumento en la expresión de IFN γ o un aumento en la proliferación de linfocitos T;
- c) repolariza las MDSC a un fenotipo proinflamatorio;
- d) aumenta la expresión de CD86 en las MDSC, aumenta la expresión de CD11b en las MDSC y/o disminuye la expresión de CD163 en las MDSC;
- e) repolariza los macrófagos tumorales lejos de un fenotipo M2;
- f) reduce los macrófagos CD163+ y/o CD206+;
- g) induce la expresión de una o más quimiocinas seleccionadas de CCL3, CCL4, CCL5, CCL17, CXCL1, CXCL9 e IL-8 en las MDSC;
- h) reduce el reclutamiento de células mieloides en el microambiente tumoral;
- i) se une a las MDSC con una afinidad inferior a 100 nM, inferior a 50 nM, inferior a 25 nM, inferior a 20 nM, inferior a 10 nM, inferior a 5 nM, inferior a 2 nM, 1-50 nM, 1-25 nM, 1-20 nM, 1-10 nM, 1-5 nM o 1-2 nM; o
- j) uno cualquiera o más de (a) a (i).

En algunas de estas modalidades, las MDSC son MDSC humanas y/o los macrófagos son macrófagos humanos.

- [0017]** En algunas modalidades, se proporciona un ácido nucleico aislado que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido aislado que comprende un dominio IgV de Siglec-9 proporcionado en la presente. En algunas modalidades, el ácido nucleico aislado codifica una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 48-77, 171-193 y 228-233. En algunas modalidades, el ácido nucleico aislado codifica un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 10-39, 148-170 y 227. En algunas modalidades, se proporciona un vector de expresión que comprende el ácido nucleico aislado.

[0018] En algunas modalidades, se proporciona una célula hospedadora que comprende un ácido nucleico aislado o un vector de expresión proporcionado en la presente. En algunas modalidades, se proporciona una célula hospedadora que expresa un polipéptido aislado que comprende un dominio IgV de Siglec-9 proporcionado en la presente. En algunas modalidades, se proporciona un método para producir el polipéptido, que comprende cultivar la célula hospedadora. En algunas de tales modalidades, el polipéptido es aislado.

[0019] En diversas modalidades, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un polipéptido aislado que comprende un dominio de IgV Siglec-9 proporcionado en la presente y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En algunas modalidades, la composición farmacéutica puede comprender (i) un polipéptido tal como se describe en la presente con su péptido señal, o (ii) un polipéptido que carece de su péptido señal; y un portador farmacéuticamente aceptable.

[0020] En algunas modalidades, se proporciona un método para tratar el cáncer, que comprende administrarle a un sujeto con cáncer un polipéptido aislado que comprende un dominio IgV de Siglec-9 proporcionado en la presente o una composición farmacéutica que comprende el polipéptido. En algunas modalidades, el cáncer es un tumor sólido asociado con un microambiente tumoral que comprende células mieloides. En algunas modalidades, el cáncer se selecciona de carcinoma de células renales, sarcoma, cáncer de páncreas, glioblastoma, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón, melanoma, cáncer de vejiga, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama y cáncer de útero. En algunas modalidades, el método comprende además administrar un antagonista de PD-1 o PD-L1, opcionalmente donde el antagonista de PD-1 o PD-L1 es un anticuerpo que se une a PD-1 o PD-L1, respectivamente. En algunas modalidades, el método comprende adicionalmente la administración de uno o más agentes quimioterapéuticos.

[0021] En algunas modalidades, se proporciona un método para tratar una enfermedad neurológica o neurodegenerativa, que comprende administrarle a un sujeto con una enfermedad neurológica o neurodegenerativa un polipéptido aislado que comprende un dominio IgV de Siglec-9 proporcionado en la presente o una composición farmacéutica que comprende el polipéptido. En algunas modalidades, la enfermedad neurológica o neurodegenerativa se caracteriza por una microglía disfuncional o deficiente. En algunas modalidades, la enfermedad neurológica o neurodegenerativa se selecciona de demencia, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular y deterioro

cognitivo leve, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Huntington, enfermedad de tauopatía, esclerosis múltiple, neuropatías inmunomediadas (tales como dolor neuropático), enfermedad de Nasu-Hakola, leucoencefalopatía de aparición en pacientes pediátricos y leucoencefalopatía de aparición en adultos con esferoides axonales y glía pigmentada (ALSP).

[0022] En algunas modalidades, se proporciona un método para repolarizar células supresoras derivadas de mieloides (MDSC) a un fenotipo proinflamatorio en un sujeto, que comprende administrarle a un sujeto con una enfermedad neurológica o neurodegenerativa un polipéptido aislado que comprende un dominio IgV de Siglec-9 proporcionado en la presente o una composición farmacéutica que comprende el polipéptido. En algunas de tales modalidades, el sujeto tiene cáncer. En algunas modalidades, el cáncer es un tumor sólido asociado con un microambiente tumoral que comprende células mieloides. En algunas modalidades, el cáncer se selecciona de carcinoma de células renales, sarcoma, cáncer de páncreas, glioblastoma, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón, melanoma, cáncer de vejiga, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama y cáncer de útero. En algunos casos, el cáncer es metastásico. En algunas modalidades, el sujeto tiene una enfermedad neurológica o neurodegenerativa. En algunas modalidades, la enfermedad neurológica o neurodegenerativa se caracteriza por una microglía disfuncional o deficiente. En algunas modalidades, la enfermedad neurodegenerativa se selecciona de demencia, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular y deterioro cognitivo leve, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Huntington, enfermedad de tauopatía, esclerosis múltiple, neuropatías inmunomediadas (tales como dolor neuropático), enfermedad de Nasu-Hakola, leucoencefalopatía de aparición en pacientes pediátricos y leucoencefalopatía de aparición en adultos con esferoides axonales y glía pigmentada (ALSP).

[0023] En algunas modalidades, se proporciona un método para repolarizar macrófagos tumorales lejos de un fenotipo M2 en un sujeto que tiene cáncer, el método comprende administrarle al sujeto un polipéptido aislado que comprende un dominio IgV de Siglec-9 proporcionado en la presente o una composición farmacéutica que comprende el polipéptido. En algunas modalidades, el cáncer es un tumor sólido asociado con un microambiente tumoral que comprende células mieloides. En algunas modalidades, el cáncer se selecciona de carcinoma de células renales, sarcoma, cáncer de páncreas,

glioblastoma, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón, melanoma, cáncer de vejiga, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama y cáncer de útero. En algunos casos, el cáncer es metastásico.

[0024] En algunas modalidades, se proporciona un método para activar células mieloides en un sujeto, donde el método comprende administrarle al sujeto un polipéptido aislado que comprende un dominio IgV de Siglec-9 proporcionado en la presente o una composición farmacéutica que comprende el polipéptido. En algunos casos, las células mieloides son microglía. En algunas modalidades, el sujeto tiene cáncer. En algunas modalidades, el cáncer es un tumor sólido asociado con un microambiente tumoral que comprende células mieloides. En algunas modalidades, el cáncer se selecciona de carcinoma de células renales, sarcoma, cáncer de páncreas, glioblastoma, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón, melanoma, cáncer de vejiga, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama y cáncer de útero. En algunos casos, el cáncer es metastásico. En algunas modalidades, el sujeto tiene una enfermedad neurológica o neurodegenerativa. En algunas modalidades, la enfermedad neurológica o neurodegenerativa se caracteriza por una microglía disfuncional o deficiente. En algunas modalidades, la enfermedad neurodegenerativa se selecciona de demencia, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular y deterioro cognitivo leve, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Huntington, enfermedad de tauopatía, esclerosis múltiple, neuropatías inmunomediadas (tales como dolor neuropático), enfermedad de Nasu-Hakola, leucoencefalopatía de aparición en pacientes pediátricos y leucoencefalopatía de aparición en adultos con esferoides axonales y glía pigmentada (ALSP).

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0025] La **FIG. 1** muestra la expresión en la superficie de Siglec-9 en linfocitos T infiltrantes de tumores, macrófagos y granulocitos, de una muestra representativa de adenocarcinoma de pulmón.

[0026] La **FIG. 2** muestra la secuencia de aminoácidos de Siglec-9 humana (SEQ ID NO: 1). Desde el extremo N al extremo C, la secuencia del péptido señal está en negrita; el dominio de unión al ligando de IgV está subrayado con la Arg conservada indicada en negrita sombreada); la secuencia intermedia está en negrita y en cursiva (ALTHR; SEQ ID NO: 3); el dominio C2 tipo 1 está en cursiva; la secuencia intermedia está en negrita y cursiva

(LNVSYP; SEQ ID NO: 4); y el dominio C2 tipo 2 está subrayado y en cursiva. El motivo ITIM (LQYASL; SEQ ID NO: 5) y el motivo de tipo SLAM (TEYSEI; SEQ ID NO: 6) están subrayados y sombreados. Se predice que el dominio transmembrana se produce a partir de los aminoácidos 349-369 de la SEQ ID NO: 1.

5 **[0027]** La **FIG. 3** muestra propiedades calculadas *in silico* de determinadas variantes de Siglec9-IgV modificadas genéticamente a pH 7,4, concentración 100 mM de NaCl y 298 K, como se describe en el Ejemplo 5.

[0028] La **FIG. 4** muestra la expresión de IFN γ por linfocitos T solos o cocultivados con células supresoras derivadas de mieloides (MDSC) en contacto con S9.1-hIgG1 (S9-hIgG1),
10 como se describe en el Ejemplo 9.

[0029] La **FIG. 5** muestra la expresión de IFN γ por linfocitos T solos o cocultivados con MDSC en contacto con anticuerpos para Siglec-3 (aS3), Siglec-7 (aS7), Siglec-9 (aS9-1 and aS9-2), una combinación de aS3, aS7, and aS9-2 o S9.1-hIgG1 (S9-hIgG1), como se describe en el Ejemplo 10.

15 **[0030]** La **FIG. 6** muestra la expresión de IFN γ por linfocitos T cocultivados con MDSC en presencia de concentraciones crecientes de S9.1-hIgG1 (S9-hIgG1) o S9.A-hIgG1 LALAPS (S9-hIgG1 LALAPS), como se describe en el Ejemplo 11.

[0031] La **FIG. 7** muestra la expresión de CCL5 (arriba) y CCL17 (abajo) de las MDSC en contacto con S9.A-hIgG1 (S9-hIgG1) o S9.A-hIgG1 NSLF (S9-hIgG1 NSLF), como se
20 describe en el Ejemplo 12.

[0032] La **FIG. 8** muestra la expresión de CD86 (arriba) y CD163 (abajo) de las MDSC en contacto con S9.A-hIgG1 (S9-hIgG1) o S9.A-hIgG1 NSLF (S9-hIgG1 NSLF), como se describe en el Ejemplo 13.

[0033] La **FIG. 9A-9C** muestran el porcentaje de macrófagos CD14+CD163+ en relación con el total de células CD45+ (9A), macrófagos CD14+CD206+ en relación con el total de células CD45+ (9B) y la expresión en la superficie de CD206 en macrófagos CD14+ (9C) en ratones tratados con S9.1-hIgG1 (S9-IgG1), S9.A-hIgG1 NSLF (S9-hIgG1 NSLF) o control de isotipo hIgG1, como se describe en el Ejemplo 14.

[0034] La **FIG. 10** muestra la cantidad de plaquetas, neutrófilos, linfocitos y monocitos por microlitro de sangre en ratones tratados con S9.1-hIgG1 (S9-hIgG1), S9.A-hIgG1 NSLF (S9-hIgG1 NSLF) o control de isotipo hIgG1, como se describe en el Ejemplo 15.

[0035] La **FIG. 11** muestra el crecimiento tumoral de en ratones C57BL/6 transgénicos que

expresan Siglec-3, Siglec-7 y Siglec-9 humanas (S3/7/9 BAC), a los que se les implantaron células MC38 y se trataron con anticuerpo anti-PD-L1, como se describe en el Ejemplo 16.

[0036] La **FIG. 12** muestra el crecimiento tumoral de en ratones C57BL/6 transgénicos que expresan Siglec-3, Siglec-7 y Siglec-9 humanas, a los que se les implantaron células MC38 y se trataron con S9.B-mIgG2a (S9-mIgG2a), como se describe en el Ejemplo 17.

[0037] La **FIG. 13** muestra el crecimiento tumoral de en ratones C57BL/6 transgénicos que expresan Siglec-3, Siglec-7 y Siglec-9 humanos, a los que se les implantaron células MC38 y se trataron con anticuerpo anti-PD-L1 o la combinación de S9.B-mIgG2a (S9-mIgG2a) y anticuerpo anti-PD-L1, como se describe en el Ejemplo 18.

[0038] La **FIG. 14** muestra la unión de fusiones Fc que comprenden los dominios extracelulares (ECD) de Siglec-3 (S3-mIgG1), Siglec-5 (S5-mIgG1), Siglec-7 (S7-mIgG1), Siglec-9 (S9-mIgG1), y Siglec-10 (S10-mIgG1) a la superficie de las MDSC en presencia de concentraciones crecientes de S9.1-hIgG1, como se describe en el Ejemplo 19.

[0039] La **FIG. 15** muestra un modelo ilustrativo del mecanismo de acción de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9-Fc (Siglec-9-Fc). Siglec-9-Fc se une al ligando (ácido siálico) en las células cancerosas a través de su resto del ECD de Siglec-9 (panel izquierdo). Basándose en los estudios de la presente, y sin limitarse a ninguna teoría, se cree que Siglec-9-Fc se une tanto a FcR (por ejemplo, FcγRIIA) como al ligando (ácido siálico) expresado en células mieloides (panel derecho). La unión se produce a través del resto Fc y el resto del ECD de Siglec-9, respectivamente, de la molécula Siglec-9-Fc mediante una interacción de unión cooperativa (o *cis*). En consecuencia, Siglec-9-Fc se une con mayor afinidad a las células mieloides en comparación con las células que no expresan FcR, lo que da como resultado un direccionamiento preferencial a las células mieloides in vivo y la activación de las células mieloides.

[0040] La **Fig. 16A** y la **Fig. 16B** muestran que S9.A-mIgG1 (S9-mIgG1) repolariza de forma única las MDSC en comparación con otras fusiones Siglec-Fc, como se describe en el Ejemplo 19. Cada conjunto de barras es, de izquierda a derecha, S3-mIgG1, S5-mIgG1, S7-mIgG1, S9-mIgG1, S10-mIgG1 y mIgG1.

[0041] La **Fig. 17** muestra la detección de la expresión de ácido siálico en muestras tumorales mediante inmunohistoquímica (IHC).

[0042] La **Fig. 18** muestra la unión de diversas variantes de Siglec-9-Fc a las células tumorales A375 y la repolarización de las células supresoras derivadas de mieloides

(MDSC), medida por la regulación por incremento de CD86 y la regulación por disminución de CD163. La Fig. 18 también muestra el rendimiento de producción y la estabilidad, medidos mediante la temperatura de fusión y el porcentaje de monómero, para cada variante.

5 **[0043]** La **Fig. 19A-19C** muestra la correlación entre la inducción de CD86 en un ensayo MDSC frente a la unión a células tumorales A375 (19A), la correlación entre el rendimiento de producción y la unión a células tumorales A375 (19B) y la correlación entre la estabilidad y la unión a células tumorales A375 (19C) para diversas variantes de Siglec-9-Fc.

10 **[0044]** La **Fig. 20** muestra la reducción de los nódulos pulmonares en ratones S3/7/9 BAC a los que se les inyectaron por vía intravenosa células de melanoma de ratón B16F10 y se trataron con S9.B-mIgG2a (S9-Fc) en comparación con ratones S3/7/9 BAC a los que se les inyectaron por vía intravenosa células de melanoma de ratón B16F10 y se trataron con control de isotipo.

15 **[0045]** La **Fig. 21** muestra que la monoterapia con S9.B-mIgG2a inhibe el crecimiento tumoral en un modelo de cáncer de mama singénico E0771 en comparación con el control de isotipo.

20 **[0046]** La **Fig. 22** muestra los resultados de los experimentos de citometría de flujo para determinar el efecto del acoplamiento del receptor Fcγ sobre la unión de Siglec-9-Fc a células supresoras privadas de mieloides (MDSC). La **Fig. 22A** muestra que la unión de Siglec-9-hIgG1 (S9-hIgG1) NSLF (rombo) a MDSC está en el intervalo de nM bajo. La **Fig. 22B** muestra que la unión de Siglec-9-hIgG1 LALAPS, que es silenciosa para Fc, es ~75 veces más débil que la de Siglec-9-hIgG1 NSLF. La **Fig. 22C** muestra la unión de Siglec-9-hIgG1 (SEQ ID NO: 40) a la línea celular de cáncer de referencia A549, que no expresa ningún receptor Fcγ. Las curvas de unión para los controles de isotipo (triángulo) también se muestran en cada panel de la figura.

25 **[0047]** La **Fig. 23** muestra los resultados de exponer un panel de ácido siálico que contiene glicanos a varias moléculas de fusión Siglec Fc, incluida Siglec-9-hIgG1. El sombreado más oscuro indica un mayor grado de unión. Como muestra la figura, la molécula Siglec-9-hIgG1 se une a una variedad de restos de ácido siálico, en contraste con otras moléculas de fusión Siglec.

30 **[0048]** La **Fig. 24** compara la unión de Siglec-9-hIgG1 y Siglec-9-hIgG1 NSLF a células sanguíneas. La **Fig. 24A** compara la unión de las dos moléculas a monocitos sanguíneos

basándose en la intensidad de fluorescencia media (MFI). La **Fig. 24B** muestra la MFI asociada con la unión a varios tipos de células sanguíneas.

[0049] La **Fig. 25** muestra el efecto de Siglec-9-hIgG1 NSLF sobre la proliferación de linfocitos T. La **Fig. 25A** muestra que la presencia de MDSC inhibió la proliferación de linfocitos T en dos muestras de donantes, que se restauró en cada muestra por Siglec-9-hIgG1 NSLF. La **Fig. 25B** proporciona una curva de respuesta a la dosis para determinar la EC50 de Siglec-9-hIgG1 NSLF en la restauración de la proliferación de linfocitos T, que fue de alrededor de 1-2 nM.

[0050] La **Fig. 26** muestra que Siglec-9-hIgG1 NSLF demostró una potencia mejorada, en ~10 veces, en comparación con Siglec-9-hIgG1, en la inducción de interferón gamma (IFN- γ) cuando se incubó Siglec-9-hIgG NSLF con MDSC y linfocitos T.

[0051] La **Fig. 27** muestra que Siglec-9-hIgG1 NSLF induce un perfil de expresión génica potente cuando se incubó con MDSC, y este perfil es congruente con la repolarización de macrófagos.

[0052] La **Fig. 28A** muestra que Siglec-9-hIgG1 NSLF provoca un aumento en la polarización M1 (regulación por incremento de CD86) en comparación con los anticuerpos anti-Siglec 15, anti-PD-L1 y anti-LILRB2. La **Fig. 28B** muestra que Siglec-9-hIgG1 NSLF provoca una disminución en la polarización M2 (regulación por disminución de CD206) en comparación con los anticuerpos anti-Siglec 15, anti-PD-L1 y anti-LILRB2.

[0053] La **Fig. 29** muestra que Siglec-9-mIgG2a en combinación con un anticuerpo anti-PD-L1 disminuye el crecimiento de células de tumor de mama E0771 implantadas en ratones en mayor medida que un control de isotipo o Siglec-9-mIgG2a o anticuerpos anti-PD-L1 solos.

[0054] La **Fig. 30** muestra el impacto de Siglec-9-mIgG2a (triángulos hacia arriba) o control de isotipo (mIgG2a) (cuadrados) en la expresión de CD86 (**Fig. 30A**) o CD11b (**Fig. 30B**) a partir de células mieloides esplénicas.

[0055] La **Fig. 31** muestra las propiedades de determinadas variantes adicionales de Siglec-9-Fc.

[0056] La **Fig. 32** muestra que las variantes S9.36, S9.37 y S9.38 se comportaron de manera similar a Siglec-9-Fc-hIgG1 (barras negras, segunda desde la izquierda), con una disminución de la expresión de CD163 (**Fig. 32A**) y CD206 (**Fig. 32B**), y aumento de la expresión de CD86 (**Fig. 32C**) en comparación con un control de isotipo (barras sombreadas

en el extremo izquierdo).

[0057] La **Fig. 33** muestra los perfiles de tiempo concentración medio de Siglec-9-hIgG1 (círculos rellenos) y Siglec-9-hIgG1 NSLF (cuadrados sin relleno) en suero de monos cynomolgus.

5 **[0058]** La **Fig. 34** muestra los perfiles cinéticos de diversas variantes de Siglec-9-Fc después de la inyección intravenosa en bolo a ratones transgénicos Siglec 3/7/9 BAC.

[0059] Se debe entender que es posible combinar una, algunas o todas las propiedades de las diversas modalidades descritas en la presente para formar otras modalidades de la presente invención. Estos y otros aspectos de la invención serán evidentes para un experto
10 en la técnica. Estas y otras modalidades de la invención se describen adicionalmente en la descripción detallada que sigue.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0060] En la presente se proporcionan polipéptidos que comprenden el dominio extracelular
15 de Siglec-9 y un compañero de fusión, por ejemplo, un dominio Fc. Las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9-Fc muestran inesperadamente una unión cooperativa a células mieloides, lo que da como resultado una potente activación de estas células inmunitarias innatas, en comparación con los anticuerpos contra Siglec-9 u otras proteínas Siglec. Tal activación es útil, por ejemplo, En el tratamiento del cáncer, trastornos neurodegenerativos
20 y otras enfermedades y trastornos en los que el sistema inmunológico podría de otro modo estar inapropiadamente suprimido. También se proporcionan en la presente polipéptidos que comprenden variantes del dominio extracelular de Siglec-9, y en el dominio IgV en particular, que están diseñados para mejorar la estabilidad, solubilidad y unión a ligandos y/u otras propiedades. Tales variantes son útiles en moléculas de fusión para activar la
25 respuesta inmunitaria como se describió anteriormente. Otras invenciones y modalidades se describen adicionalmente en la presente.

Definiciones

[0061] Las expresiones “dominio extracelular de Siglec-9” y “ECD de Siglec-9” se refieren a un polipéptido de dominio extracelular de Siglec-9 o un fragmento de este que se une al
30 ácido siálico en la superficie de las células. Los términos incluyen variantes naturales y artificiales de estos. En algunas modalidades, un ECD de Siglec-9 comprende el dominio IgV de Siglec-9. En algunas modalidades, un ECD de Siglec-9 comprende el dominio IgV y

el dominio C2 tipo 1 (C2T1) y el dominio C2 tipo 2 (C2T2) de Siglec-9. Los ECD de Siglec-9 ilustrativos no limitantes se muestran en las SEQ ID NO: 78-138.

[0062] La expresión “molécula de fusión del ECD de Siglec-9” se refiere a una molécula que comprende un ECD de Siglec-9 y un compañero de fusión unido covalentemente, tal como un dominio Fc, albúmina o polietilenglicol (PEG). En algunas modalidades, el compañero de fusión está unido al extremo C del ECD de Siglec-9. Una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 en la que el compañero de fusión es un dominio Fc también puede denominarse en la presente “molécula de fusión del ECD de Siglec-9-Fc”, “ECD de Siglec-9-Fc” o “Siglec-9-Fc”. Las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9-Fc ejemplares no limitantes se muestran en las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 10-77 y 139, incluidas aquellas secuencias con o sin sus péptidos señal asociados.

[0063] La expresión “unión específica”, “se une específicamente” o es “específico para” un resto objetivo significa que la unión es perceptiblemente diferente de una interacción no específica. La unión específica se puede medir, por ejemplo, al determinar la unión de una molécula de prueba para el resto objetivo en comparación con la unión de la molécula de prueba para un resto de control. La molécula de prueba se une específicamente al resto objetivo si la afinidad de unión por el resto objetivo es al menos 2 veces, o al menos 3 veces, o al menos 5 veces, o al menos 10 veces más fuerte que la afinidad de unión por el resto de control. Para evitar dudas, la unión específica no requiere que una molécula de prueba no se una a otros restos.

[0064] Una “modificación de aminoácidos” en una posición especificada, por ejemplo, de un ECD de Siglec-9 de la presente descripción, se refiere a la sustitución o delección del residuo especificado, o la inserción de al menos un residuo de aminoácido adyacente al residuo especificado. La inserción “adyacente” a un residuo especificado significa inserción dentro de uno a dos residuos de estos. La inserción puede ser en el extremo N o en el extremo C con respecto al residuo especificado. La modificación de aminoácido preferida en la presente es una sustitución.

[0065] La expresión “región Fc” se usa en la presente con el significado de una región de extremo C de una cadena pesada de inmunoglobulina, que incluye regiones Fc de secuencia natural y regiones Fc variantes. A pesar de que los límites de la región Fc de una cadena pesada de inmunoglobulina pueden variar, la región Fc de cadena pesada IgG humana se define generalmente como que incluye un polipéptido de un residuo de

aminoácido en la posición Cys226, o de Pro230, al extremo carboxilo de esta. Es posible eliminar la lisina del extremo C (residuo 447 conforme al sistema de numeración EU) de la región Fc, por ejemplo, durante la producción o purificación del polipéptido que contiene la región Fc o mediante la modificación recombinante del ácido nucleico que codifica el polipéptido que contiene la región Fc. Las regiones Fc de secuencia natural adecuadas para su uso en la presente descripción incluyen IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 humanas.

[0066] Una «región Fc de secuencia nativa» comprende una secuencia de aminoácidos idéntica a la secuencia de aminoácidos de una región Fc que se encuentra en la naturaleza. Las regiones Fc humanas de secuencia natural incluyen una región Fc de IgG1 humana de secuencia natural (alotipos A y no A); una región Fc de IgG2 humana de secuencia natural; una región Fc de IgG3 humana de secuencia natural; y una región Fc de IgG4 humana de secuencia natural, así como variantes de origen natural de estas.

[0067] Una "región Fc variante" comprende una secuencia de aminoácidos que difiere de la de una región Fc de secuencia nativa en virtud de al menos una modificación de aminoácidos, preferiblemente una o más sustituciones de aminoácidos. Preferentemente, la región Fc variante tiene al menos una sustitución de aminoácido en comparación con una región Fc de secuencia natural, por ejemplo, de alrededor de una a alrededor de diez sustituciones de aminoácidos, y preferentemente de alrededor de una a alrededor de cinco sustituciones de aminoácidos en una región Fc de secuencia natural. La región Fc variante en la presente tendrá preferentemente al menos alrededor de 80 % de homología con una región Fc de secuencia natural y, más preferentemente, al menos alrededor de 90 % de homología con estas y, más preferentemente, al menos alrededor de 95 % de homología con estas.

[0068] "Receptor de Fc" o "FcR" describe un receptor que se une a la región Fc. El FcR preferido es un FcR humano de secuencia natural. Además, un FcR preferido es uno que une una región Fc de IgG (un receptor gamma) e incluye receptores de las subclases Fc γ RI, Fc γ RII y Fc γ RIII, que incluyen variantes alélicas y formas empalmadas, de forma alternativa, de estos receptores, los receptores Fc γ RII incluyen Fc γ RIIA (un "receptor de activación") y Fc γ RIIB (un "receptor de inhibición"), que tiene secuencias de aminoácidos similares que difieren principalmente en los dominios citoplasmáticos de estos. El receptor de activación Fc γ RIIA contiene un motivo de activación inmunorreceptor basado en tirosina ("ITAM") en su dominio citoplásmico. El receptor de inhibición Fc γ RIIB contiene un motivo de inhibición

inmunorreceptor basado en tirosina (“ITIM”) en su dominio citoplásmico. Otros FcR están abarcados por el término “FcR” en la presente. Los FcR también pueden aumentar la semivida en suero de las moléculas que comprenden regiones Fc.

[0069] Es posible analizar la unión a FcR *in vivo* y la semivida en suero de polipéptidos con unión de gran afinidad al FcR humano, por ejemplo, en ratones transgénicos o líneas celulares humanas transfectadas con expresión de FcR humano, o en primates a los que se les administran los polipéptidos que tienen una región de Fc variante. WO 2004/42072 (Presta) describe regiones de Fc variantes de anticuerpo con mejor o menor unión a FcR. Véase también, por ejemplo, Shields et ál., J. Biol. Chem. 9(2):6591-6604 (2001).

[0070] Tal como se utilizan en la presente, “porcentaje (%) de identidad de secuencia de aminoácidos” y “homología” con respecto a una secuencia de polipéptido de referencia se refiere al porcentaje de residuos de aminoácido en una secuencia de consulta que son idénticos a los residuos de aminoácidos en la secuencia de polipéptidos de referencia, después de alinear las secuencias e introducir espacios, de ser necesario, para lograr el porcentaje máximo de identidad de secuencia y sin considerar ninguna sustitución conservadora como parte de la identidad de secuencia. La alineación a efectos de determinar el porcentaje de identidad de secuencia de aminoácidos puede lograrse de diversas formas conocidas por el experto en la técnica, por ejemplo, mediante el uso de software informático disponible al público, tal como el software BLAST, BLAST-2, ALIGN o MEGALIGN™ (DNASTAR). Los expertos en la técnica pueden determinar parámetros adecuados para medir la alineación, lo que incluye cualquier algoritmo conocido en la técnica necesario para lograr la alineación máxima en la longitud completa de las secuencias que se comparan.

[0071] Una molécula de ácido nucleico “aislada” que codifica un polipéptido, tal como un polipéptido que comprende un ECD de Siglec-9 de la presente descripción, es una molécula de ácido nucleico que se identifica y se separa de al menos una molécula contaminante con la que normalmente se asocia en el entorno en el que se produjo. Preferentemente, el ácido nucleico aislado está libre de asociación con la mayoría o sustancialmente todos los componentes asociados con el entorno de producción. Las moléculas de ácido nucleico aisladas que codifican los polipéptidos de la presente se distinguen de los ácidos nucleicos que existen naturalmente en las células.

[0072] Tal como se utiliza en la presente, se pretende que el término “vector” haga referencia

a una molécula de ácido nucleico que puede transportar otro ácido nucleico al cual se enlazó. Un tipo de vector es un “plásmido”, lo que hace referencia a un ADN de doble cadena circular al que se pueden ligar segmentos de ADN adicionales. Otro tipo de vector es un vector fágico. Otro tipo de vector es un vector viral, en el que los segmentos de ADN adicionales se pueden ligar en el genoma viral. Ciertos vectores son capaces de replicación autónoma en una célula huésped en la que se introducen (por ejemplo, los vectores bacterianos que contienen un origen bacteriano de replicación y vectores episomales de mamíferos). Otros vectores (por ejemplo, vectores no episomales de mamíferos) se pueden integrar en el genoma de una célula huésped luego de la introducción en la célula huésped, y desde allí se replican junto con el genoma del huésped. Asimismo, determinados vectores pueden dirigir la expresión de genes a los que se encuentran enlazados de forma operativa. Se hace referencia a dichos vectores en la presente como «vectores de expresión recombinantes» o simplemente, «vectores de expresión». En general, los vectores de expresión de utilidad en las técnicas de ADN recombinante se suelen encontrar en forma de plásmidos. En la presente memoria descriptiva, «plásmido» y «vector» se pueden utilizar de forma indistinta, ya que el plásmido es la forma de vector más comúnmente utilizada.

[0073] “Polinucleótido” o “ácido nucleico”, tal como se utilizan de manera indistinta en la presente, se refieren a polímeros de nucleótidos de cualquier longitud e incluyen ADN y ARN. Los nucleótidos pueden ser desoxirribonucleótidos, ribonucleótidos, nucleótidos modificados o bases y/o sus análogos, o cualquier sustrato que se pueda incorporar en un polímero mediante polimerasa de ADN o ARN, o mediante una reacción sintética.

[0074] Una “célula hospedadora” incluye una célula individual o un cultivo celular que puede contener o contiene un vector u otro ácido nucleico exógeno, por ejemplo, que incorpora una inserción de polinucleótido. En algunas modalidades, el vector u otro ácido nucleico exógeno se incorpora al genoma de la célula hospedadora. Las células hospedadoras incluyen progenie de una única célula hospedadora y puede no necesariamente ser completamente idéntica (en morfología o en complemento de ADN genómico) a la célula progenitora original debido a mutaciones naturales, accidentales o deliberadas. Una célula hospedadora incluye células que comprenden (por ejemplo, transfectadas con) un polinucleótido o polinucleótidos de esta invención.

[0075] “Portadores” tal como se usa en la presente incluye vehículos, excipientes o estabilizadores farmacéuticamente aceptables, que no son tóxicos para la célula o el

mamífero que se expone a estos en las dosificaciones y concentraciones empleadas. A menudo un portador fisiológicamente aceptable es una solución acuosa con pH amortiguado. Ejemplos de portadores fisiológicamente aceptables incluyen soluciones amortiguadoras tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; polipéptido de peso molecular bajo (menos de alrededor de 10 residuos); proteínas, tales como la albúmina sérica, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrofílicos tales como la polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como la glicina, glutamina, asparagina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos que incluyen glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; azúcares alcohólicos tales como el manitol o sorbitol; contraiones que forman sales tales como el sodio y/o tensioactivos no iónicos tales como TWEEN™, polietilenglicol (PEG) y PLURONICS™.

[0076] Tal como se utiliza en la presente, la expresión “prevenir” incluye proporcionar profilaxis con respecto a la aparición o reaparición de una enfermedad, trastorno o afección particular en un individuo. Un individuo puede estar predispuesto, ser susceptible a una enfermedad, un trastorno o una afección particular o estar en riesgo de desarrollar tal enfermedad, trastorno o afección, pero aún no ha sido diagnosticado con la enfermedad, el trastorno o la afección.

[0077] Tal como se utiliza en la presente, un individuo “que corre riesgo” de desarrollar una enfermedad, trastorno o afección particular puede tener o no tener una enfermedad o síntomas de la enfermedad detectables, y puede o no haber presentado la enfermedad o síntomas de la enfermedad detectables previo a los métodos de tratamiento descritos en la presente. “En riesgo” indica que un individuo presenta uno o más factores de riesgo, los cuales son parámetros que se pueden medir y se correlacionan con el desarrollo de una enfermedad, un trastorno o una afección particular, tal como se conoce en la técnica. Un individuo con uno o más de estos factores de riesgo tiene una probabilidad más elevada de desarrollar una enfermedad, un trastorno o una afección particular que un individuo sin uno o más de estos factores de riesgo.

[0078] Tal como se usa en la presente, los términos “tratar”, “tratamiento”, “tratado” y similares se refieren a una intervención clínica diseñada para alterar el transcurso natural de una patología clínica en el individuo que está siendo tratado. Los efectos deseables del tratamiento incluyen la disminución de la velocidad de evolución, la mejora o paliación del estado patológico, la remisión o la mejora del pronóstico y/o aliviar o disminuir los síntomas

de una enfermedad, trastorno o afección en particular. Un individuo “se trata” de forma exitosa, por ejemplo, si se mitigan o eliminan uno o más síntomas asociados a una enfermedad, un trastorno o una afección particular. En determinadas modalidades, un paciente se “trata” exitosamente contra el cáncer de acuerdo con métodos de la presente invención si el paciente muestra uno o más de los siguientes: una reducción en la cantidad o ausencia total de células cancerosas; una reducción en el tamaño tumoral; inhibición o ausencia de infiltración de células cancerosas en órganos periféricos que incluyen, por ejemplo, propagación del cáncer en tejido blando y huesos; inhibición o ausencia de metástasis tumoral; inhibición o ausencia de crecimiento tumoral; alivio de uno o más síntomas asociados con el cáncer específico; menor morbilidad y mortalidad; mejora en la calidad de vida; reducción de la tumorigenicidad, frecuencia tumorigénica o capacidad tumorigénica de un tumor; reducción en la cantidad o frecuencia de células madre cancerosas en un tumor; diferenciación de células tumorigénicas de un estado no tumorigénico; aumento de la supervivencia sin evolución (PFS), supervivencia sin enfermedad (DFS), supervivencia general (OS), respuesta completa (CR), respuesta parcial (PR) o enfermedad estable (SD); una disminución de enfermedad progresiva (PD); un menor tiempo para evolución (TTP); o cualquier combinación de estos.

[0079] Los términos “administrar”, “administrado”, “administración” y similares se refieren a métodos que se pueden usar para permitir la administración de un agente terapéutico como una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 (por ejemplo, molécula de fusión del ECD de Siglec-9-Fc). Las técnicas de administración que se pueden emplear con los agentes y métodos descritos en la presente se encuentran, por ejemplo, en Goodman y Gilman, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, edición actual, Pergamon; y Remington's, *Pharmaceutical Sciences*, edición actual, Mack Publishing Co., Easton, Pa.

[0080] Una “cantidad eficaz” hace referencia a al menos una cantidad eficaz a dosificaciones y durante períodos de tiempo necesarios para alcanzar los resultados profilácticos o terapéuticos deseados. Una cantidad eficaz se puede proveer en una o más administraciones. Una cantidad eficaz en la presente puede variar según factores tales como el estado de la enfermedad, la edad, el sexo y el peso del individuo, y la capacidad del tratamiento para provocar una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad eficaz es también aquella en la que los efectos terapéuticamente beneficiosos superan cualquier efecto tóxico o perjudicial del tratamiento. Para el uso profiláctico, los resultados

beneficiosos o deseados incluyen resultados como eliminación o reducción del riesgo, disminución de la gravedad o retraso del inicio de la enfermedad, incluidos síntomas bioquímicos, histológicos y/o conductuales de la enfermedad, sus complicaciones y fenotipos patológicos intermedios presentes durante el desarrollo de la enfermedad. Para el

5 uso terapéutico, los resultados beneficiosos o deseados incluyen resultados clínicos como disminución de uno o más síntomas que surgen de la enfermedad, aumento de la calidad de vida de quienes padecen la enfermedad, disminución de la dosis de otros medicamentos necesarios para tratar la enfermedad, potenciación del efecto de otro medicamento como mediante direccionamiento, retraso del avance de la enfermedad y/o prolongación de la
10 supervivencia. Una cantidad eficaz de un fármaco, compuesto o composición farmacéutica es una cantidad suficiente para lograr un tratamiento profiláctico o terapéutico ya sea de forma directa o indirecta. Como se comprende en el contexto clínico, una cantidad eficaz de un fármaco, compuesto o composición farmacéutica puede lograrse o no en conjunto con otro fármaco, compuesto o composición farmacéutica. Por lo tanto, una "cantidad eficaz" se
15 puede considerar en el contexto de la administración de uno o más agentes terapéuticos y un único agente se puede considerar suministrado en una cantidad eficaz si, junto con uno o más agentes adicionales, se puede lograr o se logra un resultado deseable.

[0081] Un "individuo", "sujeto" o "paciente", a los efectos del tratamiento, prevención o reducción del riesgo, hace referencia a cualquier animal clasificado como mamífero, incluso
20 seres humanos, animales domésticos y de granja, y animales de zoológico, animales utilizados en deportes o mascotas, tales como perros, caballos, conejos, ganado, cerdos, hámsteres, jerbos, ratones, hurones, ratas, gatos y similares. En algunas modalidades, el individuo es un ser humano.

[0082] Los términos "cáncer" y "canceroso" se refieren o describen las afecciones
25 fisiológicas en mamíferos donde una población de células se caracteriza por tener un crecimiento celular no regulado. El cáncer puede ser un tumor primario o pueden ser cáncer avanzado o metastásico. Un cáncer "refractario" es aquel que avanza incluso a pesar de que se haya administrado un tratamiento antitumoral al paciente con cáncer. Un cáncer "recurrente", o un cáncer que "recurrió", es aquel que ha vuelto a crecer, ya sea en el lugar
30 inicial o en un lugar distante, después de una respuesta a la terapia inicial. Un paciente "con recaída" es aquel que tiene signos o síntomas de cáncer tras la remisión. Opcionalmente, el paciente tuvo la recaída después de la terapia adyuvante o neoadyuvante.

[0083] Tal como se usa en la presente, la administración de un agente o composición “en conjunto” o “en combinación” con otro agente o composición incluye la administración simultánea y/o administración en diferentes momentos. La administración en conjunto también comprende la administración como una coformulación o la administración como composiciones independientes, lo que incluye frecuencias o intervalos de dosificación diferentes, y el uso de la misma vía de administración o vías diferentes de administración. En algunas modalidades, la administración en conjunto significa la administración como parte del mismo régimen de tratamiento. En algunas modalidades, la administración de un agente en combinación con otro agente da como resultado una “sinergia” o un “efecto sinérgico”, es decir, el efecto logrado cuando los agentes se usan juntos es mayor que la suma de los efectos que resultan del uso de los agentes por separado. En algunas modalidades, la administración de un agente en combinación con otro agente da como resultado un efecto “aditivo”, es decir, el efecto logrado cuando los agentes se usan juntos es igual a la suma de los efectos que resultan de usar los agentes por separado.

[0084] La expresión “alrededor de”, tal como se utiliza en la presente, se refiere al intervalo de error habitual para el valor respectivo fácilmente conocido por el experto en este campo técnico. La referencia a “alrededor de” un valor o parámetro en la presente incluye (y describe) modalidades que están dirigidas a ese valor o parámetro en sí.

[0085] Tal como se usa en la presente y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares “un”, “uno” y “el”, incluyen referencias plurales, salvo que el contexto indique claramente lo contrario.

[0086] Se entiende que el aspecto y las modalidades de la presente divulgación descritos en la presente incluyen “que comprende”, “que consiste en” y “que consiste básicamente en” aspectos y modalidades.

Polipéptidos que comprenden dominios extracelulares de Siglec-9

[0087] En algunas modalidades, un ECD de Siglec-9 o una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 de acuerdo con cualquiera de las modalidades de la presente puede incorporar cualquiera de las características, individualmente o en combinación, como se describe en la presente.

[0088] En la presente se proporcionan polipéptidos que comprenden un dominio IgV de Siglec-9. En determinadas modalidades, el dominio de IgV de Siglec-9 comprende los aminoácidos 20-140 de Siglec-9 humana de la SEQ ID NO: 1. Véase la Fig. 2. Como se

muestra en el Ejemplo 2 de la presente, el dominio IgV de Siglec-9 es suficiente para la unión al ácido siálico en la superficie de las células. En algunas modalidades, se proporcionan polipéptidos que comprenden un dominio extracelular (ECD) de Siglec-9 que comprende el dominio IgV, el dominio C2 tipo 1 (C2T1) y el dominio C2 tipo 2 (C2T2). El dominio C2T1 de Siglec-9 comprende los aminoácidos 146-229 de Siglec-9 humana de la SEQ ID NO: 1, y el dominio C2T2 de Siglec-9 comprende los aminoácidos 236-336 de Siglec-9 humana de la SEQ ID NO: 1. En algunas modalidades, un ECD de Siglec-9 comprende los aminoácidos 20-336 de la SEQ ID NO: 1, opcionalmente con una o más modificaciones de aminoácidos. En algunas modalidades, un ECD de Siglec-9 comprende los aminoácidos 20-336 de la SEQ ID NO: 1, opcionalmente con una o más modificaciones de aminoácidos, y opcionalmente con una a cinco delecciones o adiciones de aminoácidos en el extremo N y/o el extremo C. En algunas modalidades, el ECD de Siglec-9 puede comprender los dominios IgV, C2T1 y C2T2, pero puede carecer, por ejemplo, del último o de los últimos dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once o doce aminoácidos del extremo C (proximales a la membrana) del ECD. Los doce aminoácidos del extremo C (proximales a la membrana) del ECD se muestran en la SEQ ID NO: 147. Un ejemplo es la SEQ ID NO: 78, por ejemplo, que comprende los dominios IgV, C2T1 y C2T2 y que carece de la región proximal de la membrana del extremo C.

[0089] En algunas modalidades, un polipéptido comprende un dominio IgV de Siglec-9 que comprende una o más sustituciones de aminoácidos que mejoran la estabilidad del polipéptido, mejoran la afinidad de unión por el ácido siálico, mejoran la función del polipéptido, mejoran las propiedades farmacocinéticas del polipéptido (por ejemplo, semivida, Cmax o AUC) o cualquier combinación de los anteriores. En algunas modalidades, un polipéptido comprende un dominio IgV de Siglec-9 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 108-137 y 214-226. En algunas modalidades, un polipéptido comprende un dominio IgV de Siglec-9 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 109-137 y 214-226. En algunas modalidades, un polipéptido comprende un dominio IgV de Siglec-9 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 108-137 y 214-226 opcionalmente con una a cinco delecciones o adiciones de aminoácidos en el extremo N y/o el extremo C. En algunas modalidades, un polipéptido comprende un dominio IgV de Siglec-9 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ

ID NO: 109-137 y 214-226 opcionalmente con una a cinco delecciones o adiciones de aminoácidos en el extremo N y/o el extremo C. En algunas modalidades, un polipéptido comprende un ECD de Siglec-9 con una o más sustituciones del extremo C del dominio IgV. Por ejemplo, en algunas modalidades, el polipéptido comprende un ECD de Siglec-9 de cualquiera de las SEQ ID NO: 207-213. La tabla de secuencias a continuación representa las secuencias correspondientes a las SEQ ID NO enumeradas en la presente. En muchos casos, las ubicaciones de las sustituciones de aminoácidos se muestran en la tabla, por ejemplo, mediante subrayado o en negrita y subrayado de los residuos mutados.

[0090] En algunas modalidades, un polipéptido comprende un ECD de Siglec-9 que comprende una o más sustituciones de aminoácidos que mejoran la estabilidad del polipéptido, mejoran la afinidad de unión por el ácido siálico, mejoran la función del polipéptido, mejoran las propiedades farmacocinéticas del polipéptido o cualquier combinación de los anteriores. En algunas modalidades, un polipéptido comprende un ECD de Siglec-9 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 78-107, 138 y 194-206. En algunas modalidades, un polipéptido comprende un ECD de Siglec-9 que tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 78-107, 138, 194-206 opcionalmente con una a cinco delecciones o adiciones de aminoácidos en el extremo N y/o el extremo C.

[0091] En cualquiera de las modalidades proporcionadas en la presente, un polipéptido puede comprender además un compañero de fusión. Los compañeros de fusión ilustrativos no limitantes incluyen dominios Fc, albúmina y polietilenglicol (PEG). En algunas modalidades, el compañero de fusión está unido covalentemente al extremo C de un ECD de Siglec-9. En algunos aspectos, el compañero de fusión comprende un dominio Fc. En algunas modalidades, en la presente memoria se proporciona un polipéptido que comprende un ECD de Siglec-9 y un dominio Fc, donde el dominio Fc se fusiona opcionalmente al extremo C del ECD de Siglec-9 con o sin una secuencia enlazadora intermedia. Una “secuencia enlazadora” como se usa en la presente se refiere a una secuencia de polipéptidos que no se encuentra en un ECD de Siglec-9 natural o su compañero de fusión (por ejemplo, un dominio Fc), donde dicha secuencia de polipéptidos está dispuesta entre el ECD de Siglec-9 y su compañero de fusión. En algunas modalidades, una secuencia enlazadora puede tener entre alrededor de 4 y 25 aminoácidos. En algunas modalidades, el dominio Fc se fusiona con el extremo C sin una secuencia enlazadora. En diversas

modalidades, un polipéptido comprende un ECD de Siglec-9 y un dominio Fc de IgG1, por ejemplo, el dominio Fc de IgG1 de la SEQ ID NO: 142. En algunas modalidades, un polipéptido que comprende un ECD de Siglec-9 comprende un dominio Fc de IgG1 que comprende sustituciones de NSLF, por ejemplo, la SEQ ID NO: 143. En algunas modalidades, un polipéptido que comprende un ECD de Siglec-9 comprende un dominio Fc de IgG1 que comprende una sustitución de K322A, por ejemplo, la SEQ ID NO: 144. En algunas modalidades, un polipéptido que comprende un ECD de Siglec-9 comprende un dominio Fc de IgG4 o un dominio Fc de IgG4 que comprende una sustitución S228P, por ejemplo, tal como se muestra en la SEQ ID NO: 145 o 146, respectivamente.

- 5 [0092] En algunas modalidades, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 10-39, 148-160 y 168-170. En algunas modalidades, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 40-77, 171-183 y 191-193, que opcionalmente carece de la secuencia señal.
- 15 [0093] En algunas modalidades, un ECD de Siglec-9 o un dominio IgV de ECD de Siglec-9 de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 109-137 y 214-226. En algunos casos, el ECD de Siglec-9 comprende los dominios IgV, C2T1 y C2T2. En algunas modalidades, el ECD de Siglec-9 carece de la secuencia de la región proximal de la membrana de la SEQ
- 20 ID NO: 147 (MPR). En algunas modalidades, el ECD de Siglec-9 comprende los dominios IgV, C2T1 y C2T2 y carece de MPR. En algunas modalidades, un ECD de Siglec-9 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 79-107 y 194-206. En algunas modalidades, un ECD de Siglec-9 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 79-107 y 194-206 y carece
- 25 de la MPR de la SEQ ID NO: 147. En algunas modalidades, un ECD de Siglec-9 consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 79-107 y 194-206. En algunos aspectos, el ECD de Siglec-9 es parte de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9, que comprende el ECD y un compañero de fusión. En algunas modalidades, el compañero de fusión es un Fc, albúmina o PEG. En algunas modalidades,
- 30 la proteína de fusión es un Fc. En algunas modalidades, el compañero de fusión es un Fc y está ubicado en el extremo C de la molécula (es decir, el Fc está unido al extremo C del ECD de Siglec-9 ya sea directamente o mediante un enlazador). En algunas modalidades,

el Fc es IgG1 humana (hIgG1). En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 142-144 y 234-239. En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 142. En algunas modalidades, el dominio Fc tiene un isotipo de hIgG1 que tiene: a) unión reducida a FcγRIII; b) citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ATCC) reducida y/o actividad de unión al complemento reducida; c) unión aumentada a FcγRIIa; o cualquier combinación de a), b) y/o c), con respecto al polipéptido IgG1 de la SEQ ID NO: 142. En algunos casos, el dominio Fc comprende un isotipo de IgG1 humana con sustituciones N325S y L328F (NSLF). En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 143. En algunas modalidades, el Fc es una IgG4 humana, con o sin una sustitución S228P. Por lo tanto, en algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 145 o 146.

[0094] En algunas modalidades, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 49-77 y 171-193, que carece de una secuencia señal. En algunas modalidades, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 49-77 y 171-193, que incluye una secuencia señal. En algunas modalidades, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 49-77 y 171-193, que carece de una secuencia señal. En algunas modalidades, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 49-77 y 171-193, que incluye una secuencia señal.

[0095] En algunas modalidades, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 o del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 138. En algunas modalidades, el ECD de Siglec-9 carece de la secuencia de la región proximal de membrana (MPR) de la SEQ ID NO: 147. En algunos casos, el ECD de Siglec-9 consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 138. En algunos casos, el ECD de Siglec-9 comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 138 que carece de la secuencia señal, pero donde el ECD de Siglec-9 se ha expresado a partir de un ácido nucleico que codifica la SEQ ID NO: 138 que incluye la secuencia señal. En algunos casos, el ECD de Siglec-9 es una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 que comprende el ECD y un compañero de fusión. En algunas de tales modalidades, el compañero de fusión puede

ser un Fc, albúmina o PEG. En algunas modalidades, la proteína de fusión es un Fc. En algunas modalidades, el compañero de fusión es un Fc y está ubicado en el extremo C de la molécula (es decir, el Fc está unido al extremo C del ECD de Siglec-9 ya sea directamente o mediante un enlazador). En algunas modalidades, el Fc es IgG1 humana (hIgG1). En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 142-144 y 234-239. En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 142. En algunas modalidades, el dominio Fc tiene un isotipo de hIgG1 que tiene: a) unión reducida a FcγRIII; b) citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ATCC) reducida y/o actividad de unión al complemento reducida; c) unión aumentada a FcγRIIa; o cualquier combinación de a), b) y/o c), con respecto al polipéptido IgG1 de la SEQ ID NO: 142. En algunos casos, el dominio Fc comprende un isotipo de IgG1 humana con sustituciones N325S y L328F (NSLF). En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 143. En algunas modalidades, el Fc es una IgG4 humana, con o sin una sustitución S228P. Por lo tanto, en algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 145 o 146. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:139.

[0096] En algunas modalidades, un ECD de Siglec-9 o una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 78. En algunas modalidades, el ECD de Siglec-9 carece de la secuencia de la región proximal de membrana de la SEQ ID NO: 147 (MPR). En algunos casos, el ECD de Siglec-9 consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 78. En algunos casos, el ECD de Siglec-9 es una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 que comprende el ECD y un compañero de fusión. En algunas de tales modalidades, el compañero de fusión puede ser un Fc, albúmina o PEG. En algunas modalidades, la proteína de fusión es un Fc. En algunas modalidades, el compañero de fusión es un Fc y está ubicado en el extremo C de la molécula (es decir, el Fc está unido al extremo C del ECD de Siglec-9 ya sea directamente o mediante un enlazador). En algunas modalidades, el Fc es IgG1 humana (hIgG1). En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 142-144 y 234-239. En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 142. En algunas modalidades, el dominio Fc tiene un isotipo de hIgG1 que tiene: a) unión reducida a FcγRIII; b) citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ATCC) reducida y/o actividad

de unión al complemento reducida; c) unión aumentada a FcγRIIIa; o cualquier combinación de a), b) y/o c), con respecto al polipéptido IgG1 de la SEQ ID NO: 142. En algunos casos, el dominio Fc comprende un isotipo de IgG1 humana con sustituciones N325S y L328F (NSLF). En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 143. En algunas modalidades, el Fc es una IgG4 humana, con o sin una sustitución S228P. Por lo tanto, en algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 145 o 146.

[0097] En algunos casos, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende el del ECD de Siglec-9 de la SEQ ID NO: 78 unido en su extremo C a un dominio Fc u otro compañero de fusión, tales como albúmina o PEG, opcionalmente a través de un enlazador o directamente. En algunas modalidades, la SEQ ID NO: 78 está directamente unida en su extremo C a un dominio Fc. En algunas modalidades, la SEQ ID NO: 78 se une en su extremo C a un dominio Fc mediante un enlazador. En algunas modalidades, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 78 unida en su extremo C a un dominio Fc de isotipo de IgG1 o IgG4 humana, tal como un Fc que comprende cualquiera de las SEQ ID NO: 142- 144 y 234-239. En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 142. En algunas modalidades, el dominio Fc tiene un isotipo de hIgG1 que tiene: a) unión reducida a FcγRIII; b) citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ATCC) reducida y/o actividad de unión al complemento reducida; c) unión aumentada a FcγRIIIa; o cualquier combinación de a), b) y/o c), con respecto al polipéptido IgG1 de la SEQ ID NO: 142. En algunos casos, el dominio Fc comprende un isotipo de IgG1 humana con sustituciones N325S y L328F (NSLF). En algunas modalidades, el dominio Fc comprende la SEQ ID NO: 143. En algunas modalidades, el Fc es una IgG4 humana, con o sin una sustitución S228P. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende la SEQ ID NO: 145. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende la SEQ ID NO: 146. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 227. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 227.

[0098] En algunas modalidades, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 78 unida en su extremo C a un dominio Fc, donde la molécula comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 45-48 y 228-233, que carece de su péptido señal asociado. En algunas

5 modalidades, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 78 unida en su extremo C a un dominio Fc, donde la molécula comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 45-48 y 228-233, que incluye su péptido señal asociado. En algunas modalidades, la molécula comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 45. En algunas
10 modalidades, la molécula consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:45. En algunas modalidades, la molécula comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 48. En algunas modalidades, la molécula consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:48. En algunas modalidades, la molécula comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 228. En algunas modalidades, la molécula consiste en la
15 secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:228. En algunas modalidades, la molécula comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 229. En algunas modalidades, la molécula consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:229. En algunas modalidades, la molécula comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 230. En algunas modalidades, la molécula consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ
20 ID NO:230. En algunas modalidades, la molécula comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 231. En algunas modalidades, la molécula consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:231. En algunas modalidades, la molécula comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 232. En algunas modalidades, la molécula consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:232. En algunas modalidades,
25 la molécula comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 233. En algunas modalidades, la molécula consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:233.

[0099] En algunas modalidades, un ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 218. En algunas modalidades, el ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 198. En algunas modalidades, el ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de la
30 SEQ ID NO: 218 o 198, y carece de la secuencia de la región proximal de membrana (MPR) de la SEQ ID NO: 147. En algunos casos, el ECD de Siglec-9 consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 198. En algunos casos, el ECD de Siglec-9 es una molécula

de fusión del ECD de Siglec-9 que comprende el ECD y un compañero de fusión. En algunas de tales modalidades, el compañero de fusión puede ser un Fc, albúmina o PEG. En algunas modalidades, la proteína de fusión es un Fc. En algunas modalidades, el compañero de fusión es un Fc y está ubicado en el extremo C de la molécula (es decir, el Fc está unido al extremo C del ECD de Siglec-9 ya sea directamente o mediante un enlazador). En algunas modalidades, el Fc es IgG1 humana (hIgG1). En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 142-144 y 234-239. En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 142. En algunas modalidades, el dominio Fc tiene un isotipo de hIgG1 que tiene: a) unión reducida a FcγRIII; b) citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ATCC) reducida y/o actividad de unión al complemento reducida; c) unión aumentada a FcγRIIa; o cualquier combinación de a), b) y/o c), con respecto al polipéptido IgG1 de la SEQ ID NO: 142. En algunos casos, el dominio Fc comprende un isotipo de IgG1 humana con sustituciones N325S y L328F (NSLF). En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 143. En algunas modalidades, el Fc es una IgG4 humana, con o sin una sustitución S228P. Por lo tanto, en algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 145 o 146. En algunas modalidades, el ECD de Siglec-9 o la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende una secuencia señal. En otras modalidades, no la comprende. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:152. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 152. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:168. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 168. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:175. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 175. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:191. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 191.

[00100] En algunas modalidades, un ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 219. En algunas modalidades, el ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de

la SEQ ID NO: 199. En algunas modalidades, el ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 219 o 199, y carece de la secuencia de la región proximal de membrana (MPR) de la SEQ ID NO: 147. En algunos casos, el ECD de Siglec-9 consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 199. En algunos casos, el ECD de Siglec-9 es una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 que comprende el ECD y un compañero de fusión. En algunas de tales modalidades, el compañero de fusión puede ser un Fc, albúmina o PEG. En algunas modalidades, la proteína de fusión es un Fc. En algunas modalidades, el compañero de fusión es un Fc y está ubicado en el extremo C de la molécula (es decir, el Fc está unido al extremo C del ECD de Siglec-9 ya sea directamente o mediante un enlazador). En algunas modalidades, el Fc es IgG1 humana (hIgG1). En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 142-144 y 234-239. En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 142. En algunas modalidades, el dominio Fc tiene un isotipo de hIgG1 que tiene: a) unión reducida a FcγRIII; b) citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ATCC) reducida y/o actividad de unión al complemento reducida; c) unión aumentada a FcγRIIa; o cualquier combinación de a), b) y/o c), con respecto al polipéptido IgG1 de la SEQ ID NO: 142. En algunos casos, el dominio Fc comprende un isotipo de IgG1 humana con sustituciones N325S y L328F (NSLF). En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 143. En algunas modalidades, el Fc es una IgG4 humana, con o sin una sustitución S228P. Por lo tanto, en algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 145 o 146. En algunas modalidades, el ECD de Siglec-9 o la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende una secuencia señal. En otras modalidades, no la comprende. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 153. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 153. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 169. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 169. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 176. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 176. En algunas

modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:192. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 192.

[00101] En algunas modalidades, un ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de la

5 SEQ ID NO: 220. En algunas modalidades, el ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 200. En algunas modalidades, el ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de la SEQ ID NO: 220 o 200, y carece de la secuencia de la región proximal de membrana (MPR) de la SEQ ID NO: 147. En algunos casos, el ECD de Siglec-9 consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 200. En algunos casos, el ECD de Siglec-9 es

10 una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 que comprende el ECD y un compañero de fusión. En algunas de tales modalidades, el compañero de fusión puede ser un Fc, albúmina o PEG. En algunas modalidades, la proteína de fusión es un Fc. En algunas modalidades, el compañero de fusión es un Fc y está ubicado en el extremo C de la molécula (es decir, el Fc está unido al extremo C del ECD de Siglec-9 ya sea directamente o mediante un

15 enlazador). En algunas modalidades, el Fc es IgG1 humana (hIgG1). En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 142-144 y 234-239. En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 142. En algunas modalidades, el dominio Fc tiene un isotipo de hIgG1 que tiene: a) unión reducida a FcγRIII; b) citotoxicidad celular dependiente de

20 anticuerpos (ATCC) reducida y/o actividad de unión al complemento reducida; c) unión aumentada a FcγRIIIa; o cualquier combinación de a), b) y/o c), con respecto al polipéptido IgG1 de la SEQ ID NO: 142. En algunos casos, el dominio Fc comprende un isotipo de IgG1 humana con sustituciones N325S y L328F (NSLF). En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 143. En algunas modalidades,

25 el Fc es una IgG4 humana, con o sin una sustitución S228P. Por lo tanto, en algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 145 o 146. En algunas modalidades, el ECD de Siglec-9 o la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende una secuencia señal. En otras modalidades, no la comprende. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de

30 aminoácidos de la SEQ ID NO:154. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 154. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de

aminoácidos de la SEQ ID NO:170. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 170. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:177. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 177. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:193. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 consiste en la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 193.

[00102] En algunas modalidades, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 207-213 unida en su extremo C a un dominio Fc. En algunas modalidades, la unión es directa. En otros casos, es a través de un enlazador. En algunas modalidades, el Fc es IgG1 humana (hIgG1). En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 142-144 y 234-239. En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 142. En algunas modalidades, el dominio Fc tiene un isotipo de hIgG1 que tiene: a) unión reducida a FcγRIII; b) citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ATCC) reducida y/o actividad de unión al complemento reducida; c) unión aumentada a FcγRIIa; o cualquier combinación de a), b) y/o c), con respecto al polipéptido IgG1 de la SEQ ID NO: 142. En algunos casos, el dominio Fc comprende un isotipo de IgG1 humana con sustituciones N325S y L328F (NSLF). En algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 143. En algunas modalidades, el Fc es una IgG4 humana, con o sin una sustitución S228P. Por lo tanto, en algunas modalidades, el Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 145 o 146. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 161-167. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 184-190, que carece de su péptido señal asociado. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 184-190, que incluye su péptido señal asociado.

Dominios Fc ilustrativos

[00103] En algunas modalidades de cualquiera de las moléculas de fusión del ECD de

Siglec-9 proporcionadas en la presente, la molécula de fusión puede comprender un dominio Fc. En algunas modalidades, el dominio Fc es un isotipo de IgG1, IgG2, IgG3 y/o IgG4.

[00104] En determinadas modalidades de cualquiera de las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9 proporcionadas en la presente, el dominio Fc tiene un isotipo de IgG1. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 contiene un dominio Fc de IgG1 murina. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 contiene un dominio Fc de IgG1 humana (hIgG1), por ejemplo, tal como se proporciona en la SEQ ID NO: 142. En algunas modalidades, el dominio Fc de IgG1 humana de la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 se une a un receptor Fc activador. En determinadas modalidades, el receptor Fc de activación se selecciona de uno cualquiera o más de FcγRI, FcγRIIa y IIc, y FcγRIIIa y IIb.

[00105] En algunas modalidades, el dominio Fc de IgG1 humana de la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 no se une o tiene unión reducida a FcγRIII (CD16) y/o C1q. En algunas modalidades, el dominio Fc de IgG1 humana de la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 tiene citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) reducida y/o actividad de unión al complemento, respectivamente, que en cada caso puede reducir la destrucción no deseada de células, por ejemplo, células mieloides, a las que se une la molécula de fusión del ECD de Siglec-9. Los efectos anteriores se pueden lograr mediante determinadas modificaciones de aminoácidos, por ejemplo, las mutaciones “NSLF”, en las que un dominio Fc de IgG1 contiene las mutaciones N325S y L328F (mediante la numeración EU del dominio Fc de IgG1), tal como se muestra, por ejemplo, en la SEQ ID NO: 143. En otra modalidad, el dominio Fc de IgG1 humana comprende una mutación correspondiente a K322A (numeración EU), por ejemplo, como se proporciona en la SEQ ID NO: 144.

[00106] Las modificaciones ilustrativas del dominio Fc de IgG1 se enumeran a continuación en la Tabla A.

Tabla A: Modificaciones ilustrativas al dominio Fc de IgG1

Mutación (esquema de numeración de EU)
N325S y L328F (“NSLF”)
S267E y L328F (“SELF”)
P331S (“PS”)

Mutación (esquema de numeración de EU)
P331S y E430G ("PSEG")
K322A
L234A, L235A y P331S ("LALAPS") (elimina sustancialmente la unión de Fc a FcR)

[00107] Por ejemplo, en algunas modalidades, el dominio Fc tiene un isotipo de IgG1 humana que tiene: a) unión reducida a FcγRIII; b) citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ATCC) reducida y/o actividad de unión al complemento reducida; c) unión aumentada a FcγRIIa; o cualquier combinación de a), b) y/o c), con respecto al polipéptido IgG1 de la SEQ ID NO: 142. En algunos casos, el dominio Fc comprende la SEQ ID NO: 143. En algunos casos, el dominio Fc comprende un isotipo de IgG1 humana con sustituciones N325S y L328F (NSLF).

[00108] En algunas modalidades, también se pueden realizar sustituciones y variaciones en la región Fc de un Siglec-9-hIgG1 NSLF (ver, por ejemplo, la SEQ ID NO:45), por ejemplo, para mejorar su unión a FcRn *in vitro* y, por lo tanto, mejorar potencialmente su capacidad para ser reciclado *in vivo*. Las sustituciones y variaciones ilustrativas incluyen las sustituciones "YTE" y "LS", y las inserciones de bucle que contienen cisteína, tal como se describe en Dall'Acqua et al. (2002) *J. Immunol.* 169:5171-5180; Zalevsky et al. (2010) *Nat. Biotechnol.* 28:157-159; y la patente estadounidense n.º 9,688,756, que se incorporan en la presente mediante esta referencia en su totalidad. En algunas modalidades, un dominio Fc puede tener una secuencia como se muestra en las SEQ ID NO: 228-230 (las sustituciones y variaciones se indican mediante residuos con subrayado doble en la tabla de secuencias de la presente). Las construcciones modificadas pueden probarse para mejorar la unión a FcRn *in vitro*, por ejemplo, mediante resonancia de plasmones de superficie, y luego examinarse para determinar la farmacocinética (PK) y la farmacodinámica (PD) *in vivo*. Las construcciones Fc modificadas también pueden contener la sustitución "YTE" o "LS", o la inserción de bucle que contiene cisteína, pero no la sustitución NSLF, en el Fc. Tales construcciones se muestran en las SEQ ID NO: 231-233.

[00109] En determinadas modalidades de cualquiera de las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9 proporcionadas en la presente, el dominio Fc tiene un isotipo de IgG2. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 contiene un dominio Fc de

IgG2 murina, por ejemplo, IgG2a murina (mIgG2a). En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 contiene un dominio Fc de IgG2 humana (hIgG2). En algunas modalidades, el dominio Fc de IgG2 humana de la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 se une a un receptor Fc activador. En determinadas modalidades, el receptor Fc de activación se selecciona de uno cualquiera o más de FcγRI, FcγRIIa y IIc, y FcγRIIIa y IIb.

[00110] En determinadas modalidades de cualquiera de las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9 proporcionadas en la presente, el dominio Fc tiene un isotipo de IgG4. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 contiene un dominio Fc de IgG4 humana (hIgG4), por ejemplo, tal como se proporciona en la SEQ ID NO: 145. En algunas modalidades, la región Fc de IgG4 humana de la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 se une a un receptor Fc activador. En determinadas modalidades, el receptor Fc de activación se selecciona de uno cualquiera o más de FcγRI, FcγRIIa y IIc, y FcγRIIIa y IIb. En determinadas modalidades, la región Fc de IgG4 humana comprende una mutación correspondiente a S228P (según la numeración EU), por ejemplo, tal como se proporciona en la SEQ ID NO: 146.

Variantes de polipéptidos

[00111] En algunas modalidades de cualquiera de los polipéptidos proporcionados en la presente, se contemplan variantes de secuencia de aminoácidos. Por ejemplo, puede que sea deseable mejorar la afinidad de unión y/u otras propiedades biológicas del polipéptido.

Variantes de sustitución, inserción y eliminación

[00112] En algunas modalidades de cualquiera de los polipéptidos proporcionados en la presente, se proporcionan variantes de polipéptidos que tienen una o más sustituciones de aminoácidos. Las variantes de secuencias de aminoácidos de un polipéptido pueden prepararse mediante la introducción de modificaciones apropiadas en la secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido o mediante síntesis de péptidos. Tales modificaciones incluyen, por ejemplo, deleciones de residuos y/o inserciones en estos y/o sustituciones de estos en las secuencias de aminoácidos del polipéptido.

TABLA B: Sustituciones de aminoácidos

Residuo original	Sustituciones ilustrativas	Sustituciones preferidas
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val

Residuo original	Sustituciones ilustrativas	Sustituciones preferidas
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; Su; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
Su (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; Norleucina	Leu
Leu (L)	Norleucina; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe Ile	Leu
Phe (F)	Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; Norleucina	Leu

[00113] Las modificaciones sustanciales en las propiedades biológicas del polipéptido se logran mediante la selección de sustituciones que difieren significativamente en su efecto de mantener (a) la estructura de la cadena principal del polipéptido en el área de sustitución, por ejemplo, como una conformación de lámina o hélice, (b) la carga o hidrofobicidad de la molécula en el sitio objetivo, o (c) el volumen de la cadena lateral. Los residuos de origen natural se dividen en grupos basándose en las propiedades comunes de las cadenas laterales:

(1) hidrofóbicos: norleucina, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

(2) hidrofílicos neutros: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

(3) ácidos: Asp, Glu;

(4) básicos: His, Lys, Arg;

5 (5) residuos que influyen en la orientación de la cadena: Gly, Pro; y

(6) aromáticos: Trp, Tyr, Phe.

[00114] Por ejemplo, las sustituciones no conservadoras pueden implicar el intercambio de un miembro de una de estas clases por un miembro de otra clase. Dichos residuos sustituidos pueden introducirse, por ejemplo, en regiones de un polipéptido humano que sean homólogas con polipéptidos no humanos, o en regiones no homólogas de la molécula.

[00115] Al realizar cambios en el polipéptido descrito en la presente, de acuerdo con determinadas modalidades, se puede considerar el índice hidropático de los aminoácidos. A cada aminoácido se le asignó un índice hidropático según sus características de carga e hidrofobicidad. Estos son: isoleucina (+4,5), valina (+4,2), leucina (+3,8), fenilalanina (+2,8), cisteína/cisteína (+2,5), metionina (+1,9), alanina (+1,8), glicina (-0,4), treonina (-0,7), serina (-0,8), triptófano (-0,9), tirosina (-1,3), prolina (-1,6), histidina (-3,2), glutamato (-3,5), glutamina (-3,5), aspartato (-3,5), asparagina (-3,5), lisina (-3,9) y arginina (-4,5).

[00116] En la técnica se comprende la importancia del índice hidropático de aminoácidos para conferir una función biológica interactiva a una proteína. Kyte et ál. *J. Mol. Biol.*, 157:105-131 (1982). Se conoce que determinados aminoácidos se pueden sustituir por otros aminoácidos que tienen un índice o puntuación hidropática similar y aún conservan una actividad biológica similar. Al realizar cambios según el índice hidropático, en determinadas modalidades, se incluye la sustitución de aminoácidos cuyos índices hidropáticos están dentro de ± 2 . En determinadas modalidades, se incluyen aquellas que están dentro de ± 1 , y en determinadas modalidades, se incluyen aquellas dentro de $\pm 0,5$.

[00117] También se comprende en la técnica que la sustitución de aminoácidos similares se puede realizar eficazmente según la hidrofiliidad, particularmente cuando el péptido o la proteína biológicamente funcional creados de esa forma se pretenden para el uso en modalidades inmunológicas, como en el presente caso. En determinadas modalidades, la mejor hidrofiliidad promedio local de una proteína, como se rige por la hidrofiliidad de sus aminoácidos adyacentes, se correlaciona con su inmunogenicidad y

antigenicidad, es decir, con una propiedad biológica de la proteína.

[00118] Se asignaron los siguientes valores de hidrofiliidad a estos residuos de aminoácidos: arginina (+3,0); lisina (+3,0±1); aspartato (+3,0±1); glutamato (+3,0±1); serina (+0,3); asparagina (+0,2); glutamina (+0,2); glicina (0); treonina (-0,4); prolina (-0,5±1); alanina (-0,5); histidina (-0,5); cisteína (-1,0); metionina (-1,3); valina (-1,5); leucina (-1,8); isoleucina (-1,8); tirosina (-2,3); fenilalanina (-2,5) y triptófano (-3,4). Al realizar cambios según los valores de hidrofiliidad similares, en determinadas modalidades, se incluye la sustitución de aminoácidos cuyos valores de hidrofiliidad se encuentran dentro de ± 2 , en determinadas modalidades, se incluyen aquellos que se encuentran dentro de ± 1 y, en determinadas modalidades, se incluyen aquellos que se encuentran dentro de $\pm 0,5$.

[00119] Las inserciones de secuencias de aminoácidos incluyen fusiones de extremos amino y/o carboxilo que varían en cuanto a longitud de un residuo a polipéptidos que comprenden cien o más residuos, así como también inserciones intrasecuencia de un único o de múltiples residuos de aminoácidos.

[00120] También se puede sustituir cualquier residuo de cisteína no vinculado con la conservación de la conformación adecuada del polipéptido, generalmente con serina, para mejorar la estabilidad oxidativa de la molécula y prevenir una reticulación aberrante. Por el contrario, se pueden agregar uno o más enlaces cisteína a un polipéptido para mejorar su estabilidad.

Otras modificaciones de polipéptidos

[00121] En algunas modalidades de cualquiera de los polipéptidos, el polipéptido es un derivado. El término “derivado” se refiere a una molécula que incluye una modificación química distinta de una inserción, delección o sustitución de aminoácidos (o ácidos nucleicos). En determinadas modalidades, los derivados comprenden modificaciones covalentes, que incluyen, de modo no taxativo, enlaces químicos con polímeros, lípidos u otros restos orgánicos o inorgánicos. En determinadas modalidades, un polipéptido modificado químicamente puede tener una semivida en circulación mayor que el polipéptido que no está modificado químicamente. En determinadas modalidades, un polipéptido modificado químicamente puede tener una capacidad de direccionamiento mejorada para células, tejidos y/u órganos. En algunas modalidades, un polipéptido derivado se modifica covalentemente para incluir una o más uniones poliméricas solubles en agua, que incluyen, de modo no taxativo, polietilenglicol, polioxietilenglicol o polipropilenglicol. Véase, por

ejemplo, las patentes estadounidenses n.º 4640835, 4496689, 4301144, 4670417, 4791192 y 4179337. En determinadas modalidades, un polipéptido derivado comprende uno o más polímeros, que incluyen, de modo no taxativo, monometoxi-polietilenglicol, dextrano, celulosa, copolímeros de etilenglicol/propilenglicol, carboximetilcelulosa, dextrano, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, poli-1,3-dioxolano, poli-1,3,6-trioxano, copolímeros de etileno/anhídrido maleico, poliaminoácidos (homopolímeros o copolímeros aleatorios), poli(N-vinil pirrolidona)polietilenglicol, homopolímeros de propilenglicol, copolímeros de óxido de polipropileno/óxido de etileno, polioles polioxietilados (por ejemplo, glicerol) y alcohol polivinílico, así como mezclas de tales polímeros.

10 **[00122]** En determinadas modalidades, un derivado se modifica covalentemente con subunidades de polietilenglicol (PEG). En determinadas modalidades, uno o más polímeros solubles en agua se unen en una o más posiciones específicas, por ejemplo, en el extremo amino, de un derivado. En determinadas modalidades, uno o más polímeros solubles en agua se unen aleatoriamente a una o más cadenas laterales de un derivado. En 15 determinadas modalidades, el PEG se utiliza para mejorar la capacidad terapéutica de un polipéptido. Algunos de tales métodos se plantean, por ejemplo, en la patente estadounidense n.º 6133426, la cual se incorpora a la presente mediante referencia a todos los efectos.

Ácidos nucleicos, vectores y células hospedadoras

20 **[00123]** Las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9 de la presente descripción pueden producirse mediante el uso de métodos y composiciones recombinantes. En algunas modalidades, se proporcionan ácidos nucleicos aislados que tienen una secuencia de nucleótidos que codifica cualquiera de las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9 de la presente descripción. Por ejemplo, los ácidos nucleicos de la presente pueden codificar un 25 polipéptido de cualquiera de las SEQ ID NO: 10-39, 78, 138, 148-170 y 227. Los ácidos nucleicos de la presente pueden codificar una secuencia de aminoácidos seleccionada de cualquiera de las SEQ ID NO: 45-77, 171-193 y 228-233.

[00124] En algunas modalidades, un ácido nucleico codifica una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 que incluye una secuencia señal. En algunas modalidades, la 30 secuencia señal es una secuencia señal natural. Una secuencia señal de Siglec-9 humana natural se muestra en la SEQ ID NO: 140. En algunas modalidades, la secuencia señal es una secuencia señal no natural. Un experto en la técnica entendería que se puede usar

cualquier secuencia señal que efectúe apropiadamente el tráfico intracelular del polipéptido codificado, la escisión de la secuencia señal y la secreción del polipéptido codificado a partir de una célula. En algunas de estas modalidades, el ácido nucleico codifica una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 que comprende una secuencia señal que mejora el tráfico intracelular del polipéptido codificado, escisión de la secuencia señal y/o secreción del polipéptido codificado (eficacia y/o rendimiento) en relación con la secuencia señal de Siglec-9 humana natural. En algunas de tales modalidades, el ácido nucleico codifica una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 que comprende una secuencia señal, donde la secuencia señal comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 141. En algunas modalidades, una secuencia de señal de la SEQ ID NO: 141 mejora la producción de la molécula de fusión Siglec-9 ECD.

[00125] En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 45. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 48. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 138. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 139. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 227. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 228. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 229. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 230. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 231. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 232. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 233. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 48. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos

de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 198. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 199. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 200. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 218. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 219. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 220. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 152. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 153. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 154. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 168. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 169. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 170. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 175. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 176. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 177. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 191. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 192. En algunas modalidades, uno o más ácidos nucleicos de la presente pueden codificar la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 193.

[00126] En algunas modalidades, se proporcionan uno o más vectores (por ejemplo, vectores de expresión) que comprenden cualquiera de los ácidos nucleicos anteriores. En algunas modalidades, también se proporciona una célula hospedadora que comprende dicho ácido nucleico. En algunas modalidades, la célula hospedadora comprende (por

ejemplo, se ha transducido con) un vector que comprende un ácido nucleico que codifica la molécula de fusión del ECD de Siglec-9. En algunas modalidades, la célula hospedadora es eucariota, por ejemplo, una célula de ovario de hámster chino (CHO) o célula linfocítica (por ejemplo, una célula Y0, NS0, Sp20). Las células hospedadoras de la presente descripción incluyen también, de modo no taxativo, células aisladas, células cultivadas *in vitro* y células cultivadas *ex vivo*.

[00127] Se proporcionan métodos para preparar una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 de la presente descripción. En algunas modalidades, el método incluye cultivar una célula hospedadora de la presente descripción que comprende un ácido nucleico que codifica la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 en condiciones adecuadas para la expresión de la molécula de fusión del ECD de Siglec-9. En algunas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 se recupera posteriormente de la célula hospedadora (o medio de cultivo de la célula hospedadora).

[00128] Para la producción recombinante de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 de la presente descripción, se aísla un ácido nucleico que codifica la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 y se inserta en uno o más vectores para clonación y/o expresión adicional en una célula hospedadora. Dicho ácido nucleico puede aislarse y secuenciarse fácilmente mediante el uso de procedimientos convencionales.

[00129] Los vectores adecuados que comprenden una secuencia de ácido nucleico que codifica cualquiera de las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9 de la presente descripción incluyen, sin limitación, vectores de clonación y vectores de expresión. Es posible construir vectores de clonación adecuados de acuerdo con técnicas estándares o se pueden seleccionar de una gran cantidad de vectores de clonación disponibles en la técnica. Si bien el vector de clonación seleccionado puede variar de acuerdo con la célula hospedadora que se desea utilizar, los vectores de clonación útiles generalmente pueden autorreplicarse, pueden poseer un único objetivo para una endonucleasa de restricción particular y/o pueden portar genes para un marcador que se pueden utilizar en la selección de clones que comprenden el vector. Los ejemplos adecuados incluyen plásmidos y virus bacterianos, por ejemplo, pUC18, pUC19, Bluescript (por ejemplo, pBS SK+) y sus derivados, mpl8, mpl9, pBR322, pMB9, ColE1, pCR1, RP4, ADN de fagos y vectores transportadores, tales como pSA3 y pAT28. Estos y muchos otros vectores de clonación se encuentran disponibles de proveedores comerciales tales como BioRad, Strategene e

Invitrogen.

[00130] Las células huésped adecuadas para la clonación o expresión de vectores que codifican la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 incluyen células procariotas o eucariotas. Por ejemplo, las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9 de la presente descripción pueden producirse en eucariotas, en particular cuando la glicosilación y la función efectora de Fc contribuyen a la actividad de la molécula.

[00131] Además de los procariotas, los microorganismos eucariotas, como los hongos filamentosos o las levaduras, también son hospedadores de clonación o expresión adecuados para los vectores que codifican la molécula de fusión del ECD de Siglec-9, incluidas cepas de hongos y de levadura cuyas vías de glicosilación se han “humanizado”, lo que da como resultado la producción de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 con un patrón de glicosilación parcial o totalmente humano (por ejemplo, Gerngross *Nat. Biotech.* 22:1409-1414 (2004); y Li et ál. *Nat. Biotech.* 24:210-215 (2006)).

[00132] También pueden utilizarse como hospedadoras las células de los vertebrados. Por ejemplo, las líneas celulares de mamíferos que se adaptan para crecer en suspensión pueden ser útiles. Otros ejemplos de líneas de células hospedadoras de mamífero útiles son la línea CV1 de riñón de mono transformada por SV40 (COS-7); línea de riñón embrionario humano (células 293 o 293 como se describe, por ejemplo, en Graham et ál., *J. Gen Virol.* 36:59 (1977)) que se usaron para producir de forma recombinante moléculas de fusión del ECD de Siglec-9 de los Ejemplos de la presente; células de riñón de hámster bebé (BHK); células de sertoli de ratón (células TM4 como se describe, por ejemplo, en Mather, *Biol. Reprod.* 23:243-251 (1980)); células de riñón de mono (CV1); células de riñón de mono verde africano (VERO-76); células de carcinoma cervical humano (HELA); células de riñón canino (MDCK; células de hígado de rata de búfalo (BRL 3A); células de pulmón humano (W138); células de hígado humano (Hep G2); tumor mamario de ratón (MMT 060562); células TRI, como se describe, por ejemplo, en Mather et ál., *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68 (1982); células MRC 5; y células FS4. Otras líneas de células hospedadoras de mamífero incluyen células de ovario de hámster chino (CHO), lo que incluye células CHO DHFR (Urlaub et ál., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77:4216 (1980)) y líneas de células de mieloma, tales como Y0, NS0 y Sp2/0.

Actividades ilustrativas de moléculas de fusión del ECD de Siglec-9

[00133] En la presente se proporcionan polipéptidos que comprenden un ECD de

Siglec-9, donde el polipéptido se une al ácido siálico en la superficie de las células. El polipéptido que comprende un ECD de Siglec-9 puede ser una molécula de fusión del ECD de Siglec-9, tal como una molécula de fusión del ECD de Siglec-9-Fc. Un polipéptido que comprende un ECD de Siglec-9 puede unirse a células que comprenden ácido siálico en la superficie con una afinidad (Kd) menor que 100 nM, menor que 90 nM, menor que 80 nM, menor que 70 nM, menor que 60 nM, menor que 50 nM, menor que 40 nM o menor que 30 nM. En algunas modalidades, el polipéptido se une a células que comprenden ácido siálico en la superficie con una afinidad (Kd) de 0,1-100 nM, 0,1-90 nM, 0,1-80 nM, 0,1-70 nM, 0,1-60 nM, 0,1-50 nM, 0,1-40 nM o 0,1-30 nM. En algunas modalidades, el ECD de Siglec-9 o la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 puede unirse a MDSC con una Kd, por ejemplo, menor que 100 nM, menor que 90 nM, menor que 80 nM, menor que 70 nM, menor que 60 nM, menor que 50 nM, menor que 40 nM, menor que 30 nM, menor que 25 nM, menor que 20 nM, menor que 10 nM, menor que 5 nM, menor que 2 nM, de 0,1-50 nM, 1-50 nM, 1-25 nM, 1-20 nM, 1-10 nM, 1-5 nM o 1-2 nM. En diversas modalidades, las células son células supresoras derivadas de mieloides (MDSC). En algunos casos, las MDSC son MDSC humanas.

[00134] Un ensayo ilustrativo no limitativo para determinar la afinidad es el siguiente. Las MDSC, tales como las MDSC humanas, se aíslan y se incuban con cantidades de titulación de un polipéptido que comprende una molécula de fusión del ECD de Siglec-9-Fc. Para la detección se usa un anticuerpo anti-dominio Fc marcado por fluorescencia (por ejemplo, un anticuerpo que se une al dominio Fc de IgG1) y la unión se evalúa mediante citometría de flujo. En algunas modalidades, se usa un dominio Fc no humano (por ejemplo, un dominio Fc de IgG1 de ratón) en la molécula de fusión, para reducir la unión de fondo del anticuerpo anti-dominio Fc marcado por fluorescencia a las MDSC. En el Ejemplo 7 se proporciona un ensayo ilustrativo.

[00135] En algunas modalidades, un polipéptido que comprende un ECD de Siglec-9 repolariza las células supresoras derivadas de mieloides (MDSC). El polipéptido que comprende un ECD de Siglec-9 puede ser una molécula de fusión del ECD de Siglec-9, tal como una molécula de fusión del ECD de Siglec-9-Fc. La repolarización de las MDSC se puede determinar, por ejemplo, al medir el aumento de la expresión de quimiocinas de las MDSC incubadas con los polipéptidos. Las quimiocinas ilustrativas no limitantes cuya expresión puede aumentar, lo cual indica la repolarización de MDSC, incluyen CCL3, CCL4,

CCL5, CCL17, CXCL1, CXCL9 e IL-8. Un ensayo para determinar la repolarización puede medir la expresión de una, dos, tres, cuatro, cinco o más quimiocinas. La repolarización de las MDSC también se puede determinar al medir la expresión de CD86 y/o la expresión de CD163 en las MDSC cultivadas en presencia de un polipéptido que comprende un ECD de Siglec-9. CD86 es un marcador proinflamatorio y un aumento en la expresión de CD86 es congruente con la repolarización de las MDSC. CD163 es un marcador de macrófagos M2, y una disminución en la expresión de CD163 es congruente con la repolarización de las MDSC hacia un fenotipo proinflamatorio. En el Ejemplo 8 se proporciona un ensayo ilustrativo.

[00136] En algunas modalidades, un polipéptido que comprende un ECD de Siglec-9 alivia la supresión de linfocitos T mediada por MDSC. El polipéptido que comprende un ECD de Siglec-9 puede ser una molécula de fusión del ECD de Siglec-9, tal como una molécula de fusión del ECD de Siglec-9-Fc. Un ensayo ilustrativo no limitativo para determinar el alivio de la supresión de linfocitos T mediada por MDSC es el siguiente. Las MDSC se aíslan y cultivan, por ejemplo, durante 48 horas, con el polipéptido. Luego, las MDSC se cultivan conjuntamente con linfocitos T aislados (por ejemplo, linfocitos T CD8+) y activador de linfocitos T, tal como Dynabeads® Human T-Activator CD3/CD28. La activación de linfocitos T se puede determinar al medir la expresión de IFN γ . En algunas modalidades, la expresión de IFN γ aumenta, lo que indica la activación de linfocitos T, cuando las MDSC se incuban con un polipéptido que comprende el ECD de Siglec-9, en comparación con el polipéptido de control. En el Ejemplo 9 se proporciona un ensayo ilustrativo.

[00137] En algunas modalidades, un polipéptido que comprende un ECD de Siglec-9 bloquea la unión de otros Siglec a MDSC. En algunas de estas modalidades, el polipéptido bloquea la unión de Siglec-3, Siglec-5, Siglec-7, Siglec-9 y/o Siglec-10 a MDSC. La unión puede medirse, por ejemplo, mediante el uso del ensayo de citometría de flujo descrito en la presente para medir la K_d. En el Ejemplo 19 se proporciona un ensayo ilustrativo.

[00138] En algunas modalidades, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 78 unida en su extremo C a un dominio Fc, ya sea directamente o mediante una molécula enlazadora, tal como la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 10 o SEQ ID NO: 227, o cualquiera de las SEQ ID NO: 45-48 y 228-233, con o sin la secuencia de señal. En algunos de estos casos, la molécula puede unirse a las MDSC, tales como las MDSC humanas, con una K_d, por

ejemplo, menor que 100 nM, menor que 90 nM, menor que 80 nM, menor que 70 nM, menor que 60 nM, menor que 50 nM, menor que 40 nM, menor que 30 nM, menor que 25 nM, menor que 20 nM, menor que 10 nM, menor que 5 nM, menor que 2 nM, de 0,1-50 nM, 1-50 nM, 1-25 nM, 1-20 nM, 1-10 nM, 1-5 nM o 1-2 nM.

- 5 **[00139]** Por ejemplo, en algunas modalidades, el dominio Fc tiene un isotipo de IgG1 humana que tiene: a) unión reducida a FcγRIII; b) citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ATCC) reducida y/o actividad de unión al complemento reducida; c) unión aumentada a FcγRIIa; o cualquier combinación de a), b) y/o c), con respecto al polipéptido IgG1 de la SEQ ID NO: 142. En algunos casos, el dominio Fc comprende la SEQ ID NO:
- 10 143. En algunos casos, el dominio Fc comprende un isotipo de IgG1 humana con sustituciones N325S y L328F (NSLF). En algunos de estos casos, dicha molécula también puede tener una mayor potencia para inducir la producción de IFNγ en presencia de MDSC en comparación con un ECD de Siglec-9 con la misma secuencia de aminoácidos, pero unido en su extremo C a una molécula de Fc de tipo salvaje de hIgG1. En algunas
- 15 modalidades, la molécula puede aliviar la supresión de linfocitos T mediada por MDSC, por ejemplo, según se determina al medir un aumento en la expresión de IFNγ o un aumento en la proliferación de linfocitos T. En algunos casos, dicha molécula puede aumentar la expresión de CD86 en las MDSC y/o puede disminuir la expresión de CD206 en las MDSC. En algunos casos, dicha molécula también puede unirse a MDSC, tales como las MDSC
- 20 humanas, con una Kd menor que la de una molécula que comprende un ECD de Siglec-9 de la misma secuencia de aminoácidos, pero unido en su extremo C a un Fc de hIgG1 de tipo salvaje.

Composiciones y métodos para formular composiciones farmacéuticas

- 25 **[00140]** En la presente se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden una molécula de fusión del ECD de Siglec-9, tal como una molécula de fusión del ECD de Siglec-9-Fc, de la presente descripción y un portador farmacéuticamente aceptable. En algunas modalidades, se proporcionan en la presente composiciones farmacéuticas que comprenden las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9 de la presente descripción que tienen el grado deseado de pureza en un portador, excipiente o estabilizador
- 30 fisiológicamente aceptable (Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, Pa.). Dichos portadores, excipientes o estabilizantes aceptables no son tóxicos para los receptores en las dosis y concentraciones usadas.

[00141] En diversas modalidades, las composiciones farmacéuticas que comprenden una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 se proporcionan en formulaciones con un portador farmacéuticamente aceptable (véase, por ejemplo, Gennaro, Remington: The Science and Practice of Pharmacy with Facts and Comparisons: Drugfacts Plus, 20.^a ed. (2003); Ansel et ál., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7.^a ed., Lippencott Williams y Wilkins (2004); Kibbe et ál., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3.^a ed., Pharmaceutical Press (2000)). Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral incluyen soluciones inyectables estériles isotónicas acuosas y no acuosas que pueden comprender antioxidantes, amortiguadores, bacteriostáticos y solutos que convierten a la formulación isotónica con la sangre del receptor deseado; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizantes y conservantes.

Usos terapéuticos

[00142] Tal como se describe en la presente, las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9, por ejemplo, las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9-Fc, de la presente descripción pueden usarse para prevenir, reducir el riesgo o tratar enfermedades y trastornos. Además, las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9, por ejemplo, las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9-Fc, de la presente descripción pueden usarse en métodos para repolarizar células supresoras privadas de mieloide (MDSC) a un fenotipo proinflamatorio, por ejemplo, donde el sujeto tiene cáncer o una enfermedad neurológica o neurodegenerativa, tal como se describe a continuación. Las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9, por ejemplo, las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9-Fc, de la presente descripción también se pueden usar en métodos para activar células mieloides, por ejemplo, donde el sujeto tiene cáncer o una enfermedad neurológica o neurodegenerativa, tal como se describe a continuación. Las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9, por ejemplo, las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9-Fc, de la presente descripción pueden usarse adicionalmente en métodos para repolarizar macrófagos tumorales lejos de un fenotipo M2 en un sujeto con cáncer tal como se describe en la presente.

[00143] En un aspecto de la invención, se usa una molécula de fusión del ECD de Siglec-9, por ejemplo, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9-Fc, como agente terapéutico. Se lleva a cabo un régimen terapéutico al identificar un sujeto, por ejemplo, un paciente humano que padece (o corre el riesgo de desarrollar) una enfermedad o trastorno que se

beneficiaría con el tratamiento con una molécula de fusión del ECD de Siglec-9.

[00144] Tal como se detalla adicionalmente a continuación, se puede usar una molécula de fusión del ECD de Siglec-9, por ejemplo, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9-Fc, en combinación con un agente terapéutico adicional que se usa para tratar la enfermedad o patología proporcionada en la presente. Las expresiones “en combinación” y “en conjunto” se usan indistintamente en la presente descripción. El agente terapéutico adicional que se administra en combinación con la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 puede administrarse antes, después o de manera simultánea con la molécula de fusión del ECD de Siglec-9.

[00145] En algunas modalidades, la enfermedad o el trastorno que se debe tratar es cáncer. En determinadas modalidades, el cáncer es un tumor sólido. El tumor sólido puede estar asociado con un microambiente tumoral que comprende células mieloides, por ejemplo, macrófagos, monocitos, microglía (en el SNC), células dendríticas, neutrófilos y/o granulocitos. En determinadas modalidades, el microambiente tumoral comprende macrófagos y monocitos. En determinadas modalidades, las células mieloides crean un microambiente tumoral inmunosupresor en el que un tumor puede evadir el sistema inmunológico. El tratamiento con una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 en la presente puede aliviar esta supresión al activar las células mieloides y promover una respuesta inmunitaria antitumoral.

[00146] En determinadas modalidades, un cáncer que se va a prevenir o tratar mediante los métodos de la presente descripción incluye, sin limitación, carcinoma de células escamosas (por ejemplo, carcinoma epitelial de células escamosas), cáncer de pulmón, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC), cáncer de pulmón no microcítico escamoso, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón escamoso, NSCLC no escamoso, glioma, cáncer de peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico o cáncer de estómago, incluidos cáncer gastrointestinal y cáncer del estroma gastrointestinal, cáncer renal (por ejemplo, carcinoma de células claras), cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de endometrio, carcinoma hepático, cáncer de riñón (por ejemplo, carcinoma de células renales (RCC)), cáncer de próstata (por ejemplo, adenocarcinoma de próstata refractario a hormonas), cáncer de tiroides, neuroblastoma, sarcoma, cáncer de páncreas, cáncer cerebral (por ejemplo, astrocitoma como glioblastoma (glioblastoma multiforme)), cáncer de cuello uterino, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de

mama (por ejemplo, cáncer de mama triple negativo) y cáncer de cabeza y cuello (carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello), melanoma (por ejemplo, melanoma maligno metastásico, tal como melanoma maligno cutáneo o intraocular), cáncer de tiroides, cáncer óseo, cáncer de piel, cáncer de útero, cáncer anal, cáncer de testículo, carcinoma de las trompas de Falopio, cáncer de vulva, colangiocarcinoma y cáncer de esófago. En determinadas modalidades, el cáncer se selecciona de carcinoma de células renales, sarcoma, cáncer de páncreas, glioblastoma, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón, melanoma, cáncer de vejiga, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de mama y cáncer de útero.

10 **[00147]** En determinadas modalidades, un cáncer que se va a prevenir o tratar mediante los métodos de la presente descripción incluye, sin limitación, un cáncer hematopoyético, tal como leucemia, linfoma o mieloma.

[00148] En algunas modalidades, el cáncer puede ser cáncer de etapa temprana o cáncer de etapa tardía. En algunas modalidades, el cáncer puede ser un tumor primario. En algunas modalidades, el cáncer puede ser un tumor metastásico en un segundo sitio derivado de cualquiera de los tipos de cáncer que anteceden.

15 **[00149]** En algunas modalidades, la presente descripción proporciona métodos para tratar a un individuo que tiene cáncer, en los que el individuo tiene un cáncer que es refractario a la terapia con inhibidores de puntos de control, mediante la administración al individuo de una cantidad eficaz de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9, por ejemplo, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9-Fc, de la presente descripción. En determinadas modalidades, el individuo tiene un cáncer que es refractario a la terapia con un antagonista de PD-1 o PD-L1, por ejemplo, un anticuerpo PD-1 o PD-L1, como los que se proporcionan a continuación.

20 **[00150]** En algunas modalidades, la presente descripción proporciona métodos para tratar a un individuo que tiene cáncer, en los que el individuo tiene un cáncer que recurrió tras la terapia con inhibidores de puntos de control, mediante la administración al individuo de una cantidad terapéuticamente eficaz de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9, por ejemplo, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9-Fc, de la presente descripción. En determinadas modalidades, el individuo tiene un cáncer que recurrió tras la terapia con un antagonista de PD-1 o PD-L1, por ejemplo, un anticuerpo PD-1 o PD-L1, como los que se proporcionan a continuación.

[00151] En algunas modalidades, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9, por ejemplo, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9-Fc, de la presente descripción puede administrarse junto con un antagonista de una molécula inhibidora de punto de control inmunitario. En algunas modalidades, la molécula inhibidora del punto de control es PD-1 (proteína 1 de la muerte celular programada) o su ligando PD-L1 (ligando 1 de muerte programada). En algunas modalidades, un antagonista de PD-1 es un anticuerpo de PD-1. Los anticuerpos contra PD-1 incluyen, por ejemplo, OPDIVO (nivolumab), KEYTRUDA (pembrolizumab), MEDI-0680 (AMP-514; WO2012/145493), camrelizumab (SHR-1210), tislelizumab (BGB-A317) o spartalizumab (NPVPDR001, NVS240118, PDR001). Una proteína recombinante compuesta por el dominio extracelular de PD-L2 (B7-DC) fusionado con la parte Fc de IgG1, denominada AMP-224, también puede utilizarse para antagonizar el receptor de PD-1. En algunas modalidades, un antagonista de PD-L1 es un anticuerpo de PD-L1. Los anticuerpos de PD-L1 incluyen, por ejemplo, TECENTRIQ (atezolizumab), durvalumab (MEDI4736), BMS-936559 (WO2007/005874), MSB0010718C (WO2013/79174) o rHigM12B7. En algunas modalidades, se administra una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 de la presente invención en combinación con radioterapia y/o un agente quimioterapéutico.

[00152] En algunas modalidades, se proporcionan métodos para tratar un trastorno neurológico o neurodegenerativo mediante la administración a un paciente que lo necesite de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9, tal como una molécula de fusión del ECD de Siglec-9-Fc. En algunas modalidades, el trastorno neurológico o neurodegenerativo se caracteriza por una microglía disfuncional (por ejemplo, hipoactiva) o deficiente. Las microglías son células inmunitarias innatas que residen específicamente en el cerebro y que funcionan como macrófagos, al limpiar los desechos y las neuronas muertas a través del proceso de fagocitosis y al proporcionar otras funciones de apoyo para mantener la salud del cerebro. Sin limitarse por la teoría, la activación de la microglía por una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 podría tratar el trastorno neurológico o neurodegenerativo. En algunas modalidades, el paciente tiene síntomas de un trastorno neurológico o neurodegenerativo, y la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 se administra para tratar el trastorno neurológico o neurodegenerativo. En algunas modalidades, el paciente tiene riesgo de un trastorno neurológico o neurodegenerativo, y la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 se administra para reducir el riesgo, retardar el inicio o prevenir el trastorno

neurrológico o neurodegenerativo. En algunas modalidades, el trastorno neurrológico o neurodegenerativo se selecciona de demencia, que incluye la demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular y deterioro cognitivo leve, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Huntington, enfermedad de tauopatía, esclerosis múltiple, neuropatías inmunomediadas (tales como dolor neuropático), enfermedad de Nasu-Hakola, leucoencefalopatía de aparición en pacientes pediátricos y leucoencefalopatía de aparición en adultos con esferoides axonales y glía pigmentada (ALSP).

Demencia

10 **[00153]** La demencia es un síndrome no específico (es decir, un conjunto de signos y síntomas) que se presenta como una pérdida grave de la capacidad cognitiva global en una persona previamente no afectada, más allá de lo que se podría esperar del envejecimiento usual. La demencia puede permanecer estática como consecuencia de una única lesión cerebral global. De manera alternativa, la demencia puede ser progresiva, lo que genera un
15 declive a largo plazo debido a daño o enfermedad en el cuerpo. Aunque la demencia es mucho más usual en la población geriátrica, también se puede presentar antes de los 65 años de edad. Las áreas cognitivas afectadas por la demencia incluyen, de modo no taxativo, memoria, lapso de atención, lenguaje y resolución de problemas. En general, los síntomas se deben presentar durante al menos seis meses antes de que se diagnostique
20 que un individuo tiene demencia.

[00154] Ejemplos de formas de demencia incluyen, de modo no taxativo, demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, demencia semántica y demencia con cuerpos de Lewy.

[00155] En algunas modalidades, la administración de una molécula de fusión del ECD de
25 Siglec-9 de la presente descripción puede prevenir, reducir el riesgo de y/o tratar la demencia. En algunas modalidades, la administración de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 puede modular una o más actividades de Siglec-9 en un individuo que tiene demencia.

Demencia frontotemporal

30 **[00156]** La demencia frontotemporal (DFT) es una afección generada por el deterioro progresivo del lóbulo frontal del cerebro. Con el transcurso del tiempo, la degeneración puede progresar al lóbulo temporal. En segundo lugar de prevalencia, luego de la

enfermedad de Alzheimer (EA), la DFT representa 20 % de los casos de demencia presenil. Los rasgos clínicos de la FTD incluyen deficiencia de memoria, anomalías de comportamiento, cambios en la personalidad e impedimentos en el lenguaje (Cruts, M. & Van Broeckhoven, C., Trends Genet. 24:186-194 (2008); Neary, D., et ál., Neurology 51:1546-1554 (1998); Ratnavalli, E., Brayne, C., Dawson, K. & Hodges, J. R., Neurology 58:1615-1621 (2002)).

[00157] Una parte importante de los casos de FTD se heredan de forma dominante autosómica, pero los síntomas pueden abarcar un espectro de FTD con perturbaciones de comportamiento a afasia progresiva primaria y degeneración ganglionar corticobasal incluso en una familia. Al igual que la mayoría de las enfermedades neurodegenerativas, la FTD se puede caracterizar por la presencia patológica de agregados proteicos específicos en el cerebro enfermo. Históricamente, las primeras descripciones de FTD reconocieron la presencia de acumulaciones intraneuronales de proteína Tau hiperfosforilada en ovillos neurofibrilares o cuerpos de Pick. La identificación de mutaciones en el gen que codifica la proteína Tau en varias familias apoya el rol causal de la proteína Tau asociada a microtúbulos (Hutton, M., et ál., Nature 393:702-705 (1998). Sin embargo, la mayoría de los cerebros con FTD no presentan acumulación de Tau hiperfosforilada, pero exhiben inmunorreactividad a ubiquitina (Ub) y proteína de unión a ADN TAR (TDP43) (Neumann, M., et ál., Arch. Neurol. 64:1388-1394 (2007)). Se demostró que una mayoría de dichos casos de FTD con inclusiones de Ub (FTD-U) porta mutaciones en el gen de progranulina.

[00158] En algunas modalidades, la administración de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 de la presente descripción puede prevenir, reducir el riesgo de y/o tratar la FTD. En algunas modalidades, la administración de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 puede modular una o más actividades de Siglec-9 en un individuo que tiene FTD.

Enfermedad de Alzheimer

[00159] La enfermedad de Alzheimer (EA) es la forma más común de demencia. No existe cura para la enfermedad, la que empeora a medida que evoluciona y, eventualmente, lleva a la muerte. En la mayoría de los casos, se diagnostica EA en individuos mayores de 65 años. Sin embargo, la enfermedad de Alzheimer de aparición temprana de menor prevalencia se puede presentar mucho antes. Los síntomas comunes de la enfermedad de Alzheimer incluyen síntomas de comportamiento, tales como dificultad para recordar eventos recientes, síntomas cognitivos, confusión, irritabilidad y agresión, cambios de

humor, problemas con el lenguaje y pérdida de memoria a largo plazo. A medida que la enfermedad evoluciona, se pierden funciones corporales, lo que lleva, en última instancia, a la muerte. La enfermedad de Alzheimer se desarrolla durante una extensión de tiempo desconocida y variable antes de ser completamente evidente y puede evolucionar sin diagnóstico durante años.

[00160] En la presente también se informa la observación de que el alelo menor de rs2075803, un SNP en el locus de Siglec-9 en el cromosoma 19, está asociado con un aumento en los niveles de Siglec-9 en plasma y el riesgo de enfermedad de Alzheimer. Adicionalmente, en la presente se informa la observación de que el alelo menor de rs12983058, un SNP en el locus de Siglec-7 en el cromosoma 19, está asociado con un aumento en los niveles de Siglec-7 en plasma y el riesgo de enfermedad de Alzheimer.

[00161] Por consiguiente, en algunas modalidades, la administración de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 de la presente descripción puede prevenir, reducir el riesgo de y/o tratar la enfermedad de Alzheimer. En algunas modalidades, la administración de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 puede modular una o más actividades de Siglec-9 en un individuo que tiene enfermedad de Alzheimer.

Enfermedad de Parkinson

[00162] La enfermedad de Parkinson, a la que se puede hacer referencia como parkinsonismo primario o idiopático, síndrome de rigidez hipocinética (HRS) o parálisis agitante, es un trastorno cerebral neurodegenerativo que afecta el control del sistema motor. La muerte progresiva de las células productoras de dopamina en el cerebro conduce a los principales síntomas del Parkinson. En la mayoría de los casos, la enfermedad de Parkinson se diagnostica en individuos mayores de 50 años. En la mayoría de las personas, la enfermedad de Parkinson es idiopática (no tiene causa conocida). Sin embargo, los factores genéticos también cumplen una función en la enfermedad.

[00163] Los síntomas de la enfermedad de Parkinson incluyen, de modo no taxativo, temblor de las manos, brazos, piernas, mandíbula y rostro, rigidez muscular de las extremidades y el torso, lentitud de movimiento (bradicinesia), inestabilidad postural, dificultad para caminar, problemas neuropsiquiátricos, cambios del habla o el comportamiento, depresión, ansiedad, dolor, psicosis, demencia, alucinaciones y problemas para dormir.

[00164] En algunas modalidades, la administración de una molécula de fusión del ECD de

Siglec-9 de la presente descripción puede prevenir, reducir el riesgo de y/o tratar la enfermedad de Parkinson. En algunas modalidades, la administración de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 puede modular una o más actividades de Siglec-9 en un individuo que tiene enfermedad de Parkinson.

5 *Esclerosis lateral amiotrófica (ELA)*

[00165] Tal como se utilizan en la presente, la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de la neurona motora o enfermedad de Lou Gehrig se emplean de forma intercambiable y hacen referencia a una enfermedad debilitante con una etiología variada que se caracteriza por el debilitamiento progresivo rápido, atrofia muscular y fasciculaciones, espasmos musculares, dificultad para hablar (disartria), dificultad para tragar (disfagia) y dificultad para respirar (disnea).

[00166] Se ha demostrado que la progranulina desempeña una función en ELA (Schymick, JC et ál., (2007) J[0343] Neurol Neurosurg Psychiatry; 78:754-6) y protege contra el daño provocado por proteínas que causan ELA, tales como TDP-43 (Laird, AS et ál., (2010). PLoS ONE 5: e13368). También se demostró que pro-NGF induce la muerte de oligodendrocitos y neuronas corticoespinales mediada por p75 luego de una lesión de médula espinal (Beatty et ál., Neuron (2002),36, págs. 375-386; Giehl et ál., Proc. Natl. Acad. Sci USA (2004), 101, pp 6226-30).

[00167] En algunas modalidades, la administración de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 de la presente descripción puede prevenir, reducir el riesgo de y/o tratar la ELA. En algunas modalidades, la administración de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 puede modular una o más actividades de Siglec-9 en un individuo que tiene esclerosis lateral amiotrófica.

Enfermedad de Huntington

[00168] La enfermedad de Huntington (HD) es una enfermedad neurodegenerativa heredada provocada por una mutación dominante autosómica en el gen de Huntington (HTT). La expansión de una repetición del triplete citocina-adenina-guanina (CAG) en el gen de Huntington genera la producción de una forma mutante de la proteína de Huntington (Htt) codificada por el gen. Dicha proteína de Huntington con mutación (mHtt) es tóxica y contribuye a la muerte celular. Los síntomas de la enfermedad de Huntington suelen aparecer entre los 35 y los 44 años de edad, aunque pueden aparecer a cualquier edad.

[00169] Los síntomas de la enfermedad de Huntington incluyen, de modo no taxativo,

problemas de control motor, brusquedad, movimientos aleatorios (corea), movimientos oculares anormales, impedimentos de equilibrio, convulsiones, dificultad para masticar, problemas cognitivos, alteraciones del habla, déficits de memoria dificultades para razonar, insomnio, fatiga, demencia, cambios de la personalidad, depresión, ansiedad y comportamiento compulsivo.

[00170] En algunas modalidades, la administración de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 de la presente descripción puede prevenir, reducir el riesgo de y/o tratar la enfermedad de Huntington (EH). En algunas modalidades, la administración de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 puede modular una o más actividades de Siglec-9 en un individuo que tiene enfermedad de enfermedad de Huntington.

Tauopatía

[00171] Las tauopatías representan una clase de enfermedades neurodegenerativas provocadas por agregado de la proteína tau asociada a microtúbulos en el cerebro. La enfermedad de Alzheimer (EA) es la tauopatía más conocida e implica una acumulación de proteína tau dentro de las neuronas en forma de ovillos neurofibrilares insolubles (NFT). Otras tauopatías incluyen parálisis supranuclear progresiva, demencia pugilística (encefalopatía traumática crónica), demencia frontotemporal y parkinsonismo vinculado al cromosoma 17, enfermedad de Lytico-Bodig (complejo de demencia y Parkinson de Guam), demencia predominante de ovillos, ganglioglioma y gangliocitoma, meningioangiomatosis, panencefalitis esclerosante subaguda, encefalopatía principal, esclerosis tuberosa, enfermedad de Hallervorden-Spatz, lipofuscinosis, enfermedad de Pick, degeneración corticobasal, argirofilia granulosa (AGD), enfermedad de Huntington y degeneración lobular frontotemporal.

[00172] En algunas modalidades, la administración de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 de la presente descripción puede prevenir, reducir el riesgo de y/o tratar la enfermedad de tauopatía. En algunas modalidades, la administración de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 puede modular una o más actividades de Siglec-9 en un individuo que tiene enfermedad de enfermedad de tauopatía.

Esclerosis múltiple

[00173] También se puede hacer referencia a la esclerosis múltiple (EM) como esclerosis diseminada o encefalomiелitis diseminada. La EM es una enfermedad inflamatoria en la cual se dañan las vainas de mielina grasa alrededor de los axones del cerebro y la médula

espinal, lo que lleva a la desmielinación y la cicatrización, así como a un amplio espectro de señales y síntomas. La EM afecta la capacidad de las células nerviosas en el cerebro y la médula espinal para comunicarse entre sí de forma eficaz. Las células nerviosas se comunican mediante el envío de señales eléctricas llamadas potenciales de acción a través de fibras largas, conocidas como axones, contenidas en una sustancia aislante llamada mielina. En la EM, el sistema inmunitario del cuerpo ataca y daña la mielina. Cuando se pierde la mielina, los axones pierden la capacidad de conducción eficaz de señales. Usualmente, la aparición de la EM se produce en adultos jóvenes y es más común en mujeres.

10 **[00174]** Los síntomas de la EM incluyen, de modo no taxativo, cambios en la percepción, tales como pérdida de sensibilidad o cosquilleo; punzadas o insensibilidad, tal como hipoestesia y parestesia; debilidad muscular; clono; espasmos musculares; dificultad de movimiento; dificultades de coordinación y equilibrio, tales como ataxia; problemas para hablar, tales como disartria, o para tragar, tales como disfagia; problemas visuales, tales como nistagmo, neuritis óptica que incluye fosfenos y diploscopía; fatiga; dolor agudo o crónico; problemas de vejiga e intestino; impedimento cognitivo de varios grados; síntomas emocionales de depresión y humor inestable; fenómeno de Uhthoff, el que implica exacerbar los síntomas existentes debido a una exposición a temperaturas ambientales mayores que las usuales y la señal de Lhermitte, la que es una sensación eléctrica a lo largo de la espalda cuando se flexiona el cuello.

[00175] En algunas modalidades, la administración de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 de la presente descripción puede prevenir, reducir el riesgo de y/o tratar la EM. En algunas modalidades, la administración de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 puede modular una o más actividades de Siglec-9 en un individuo que tiene EM.

25 **Administración**

[00176] Una molécula de fusión del ECD de Siglec-9, tal como una molécula de fusión del ECD de Siglec-9-Fc, proporcionada en la presente (y cualquier agente terapéutico adicional) se puede administrar por cualquier medio adecuado, incluida la administración parenteral, intrapulmonar, intranasal, intratumoral, intralesional, intracerebroespinal, intracraneal, intraespinal, intrasinovial, intratecal, oral, tópica o por inhalación. Las infusiones parenterales incluyen la administración intramuscular, administración intravenosa como un bolo o mediante infusión continua durante un período de tiempo, intraarterial, intraperitoneal

o subcutánea. En algunas modalidades, la administración es administración intravenosa. En algunas modalidades, la administración es subcutánea. La dosificación puede ser mediante cualquier vía adecuada, por ejemplo, mediante inyecciones, tal como por vía intravenosa o subcutánea, dependiendo en parte de si la administración es breve o crónica. En este documento se contemplan diversos programas de dosificación que incluyen, pero no se limitan a, administraciones únicas o múltiples durante varios puntos de tiempo, administración de bolo e infusión de pulso.

[00177] Para la prevención o el tratamiento de enfermedades, la dosis apropiada de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 de la invención, tal como una molécula de fusión del ECD de Siglec-9-Fc, cuando se usa sola o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales diferentes, dependerá del tipo de enfermedad a tratar, el tipo de molécula de fusión, la gravedad y el curso de la enfermedad, si la molécula de fusión se administra con fines preventivos o terapéuticos, la terapia previa, la historia clínica del paciente y la respuesta a la molécula de fusión, y el criterio del médico tratante. La molécula de fusión se administra adecuadamente al paciente de una vez o durante una serie de tratamientos.

Usos para diagnóstico

[00178] En algunas modalidades, las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9 proporcionadas en la presente son útiles para detectar la presencia de un ligando de Siglec, por ejemplo, ácido siálico, en una muestra o un individuo. El término “detectar”, tal como se usa en la presente, abarca la detección cuantitativa o cualitativa. En la presente se proporcionan métodos para usar las moléculas de fusión del ECD de Siglec-9 de esta descripción con fines de diagnóstico, tales como la detección de ácido siálico en un individuo o en muestras de tejido derivadas de un individuo. En algunas modalidades, el individuo es un ser humano.

[00179] El método de detección puede implicar la cuantificación de la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 unida al ácido siálico. Tal detección en muestras biológicas se puede producir con cualquier método conocido en la técnica, lo que incluye microscopía con inmunofluorescencia, inmunocitoquímica, inmunohistoquímica, ELISA, análisis FACS, inmunoprecipitación o tomografía por emisión de micropositrones. En determinadas modalidades, la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 se radiomarca, por ejemplo, con ¹⁸F y posteriormente se detecta mediante el uso de un análisis de tomografía por emisión

de micropositrones. También es posible cuantificar la unión al ácido siálico en un paciente mediante técnicas no invasivas, tales como tomografía por emisión de positrones (PET), tomografía computarizada con rayos X, tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT), tomografía computarizada (TC) y tomografía axial computarizada (TAC).

5 **Artículos de manufactura**

[00180] En la presente se proporcionan artículos de fabricación (por ejemplo, kits) que comprenden una molécula de fusión del ECD de Siglec-9, por ejemplo, una molécula de fusión del ECD de Siglec-9-Fc, tal como se describe en la presente. El artículo de fabricación puede incluir uno o más recipientes que comprenden una molécula de fusión del ECD de Siglec-9 descrita en la presente. Los recipientes pueden ser cualquier envase adecuado que incluye, de modo no taxativo, viales, botellas, frascos, envases flexibles (por ejemplo, bolsas Mylar o de plástico selladas) y similares. Los recipientes pueden ser dosis unitarias, paquetes a granel (por ejemplo, paquetes de múltiples dosis) o dosis subunitarias.

[00181] En algunas modalidades, los kits pueden incluir además un segundo agente. En algunas modalidades, el segundo agente es un amortiguador o agente de dilución farmacéuticamente aceptable que incluye, de modo no taxativo, tal como agua bacteriostática para inyección (BWFI), solución salina amortiguada con fosfato, solución de Ringer y solución de dextrosa. En algunas modalidades, el segundo agente es un agente farmacéuticamente activo como se describió anteriormente.

[00182] En algunas modalidades de cualquiera de los artículos de fabricación, el artículo de fabricación incluye además instrucciones de uso de acuerdo con los métodos de esta descripción. Las instrucciones generalmente incluyen información sobre la dosificación, el cronograma de dosificación y la vía de administración para el tratamiento previsto. En algunas modalidades, estas instrucciones comprenden una descripción de la administración de la molécula de fusión del EDC de Siglec-9 de la presente descripción para prevenir, reducir el riesgo de o tratar a un individuo que tiene una enfermedad, trastorno o lesión seleccionada de carcinoma de células escamosas (por ejemplo, carcinoma epitelial de células escamosas), cáncer de pulmón, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC), cáncer de pulmón no microcítico escamoso, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón escamoso, NSCLC no escamoso, glioma, cáncer de peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico o cáncer de estómago, incluidos cáncer gastrointestinal y cáncer del estroma gastrointestinal, cáncer renal (por ejemplo, carcinoma

de células claras), cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de endometrio, carcinoma hepático, cáncer de riñón (por ejemplo, carcinoma de células renales (RCC)), cáncer de próstata (por ejemplo, adenocarcinoma de próstata refractario a hormonas), cáncer de tiroides, neuroblastoma, cáncer de páncreas, cáncer cerebral (por ejemplo, astrocitoma como glioblastoma (glioblastoma multiforme)), cáncer de cuello uterino, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama (por ejemplo, cáncer de mama triple negativo) y cáncer de cabeza y cuello (carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello), melanoma (por ejemplo, melanoma maligno metastásico, tal como melanoma maligno cutáneo o intraocular), cáncer de tiroides, cáncer óseo, cáncer de piel, cáncer de útero, cáncer anal, cáncer de testículo, carcinoma de las trompas de Falopio, cáncer de vulva, colangiocarcinoma, cáncer de esófago, demencia, que incluye la demencia frontotemporal, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular y deterioro cognitivo leve, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), enfermedad de Huntington, enfermedad de tauopatía, esclerosis múltiple, neuropatías inmunomediadas (tales como dolor neuropático), enfermedad de Nasu-Hakola, leucoencefalopatía de aparición en pacientes pediátricos y leucoencefalopatía de aparición en adultos con esferoides axonales y glía pigmentada (ALSP), de acuerdo con cualquiera de los métodos de la presente descripción. En algunas modalidades, las instrucciones incluyen instrucciones para el uso de la molécula de fusión del ECD de Siglec-9 y el segundo agente (por ejemplo, segundo agente farmacéuticamente activo).

[00183] Se comprenderá de forma más detallada la presente descripción con referencia a los siguientes Ejemplos. Sin embargo, no debería interpretarse que limitan el alcance de la presente descripción. Todo el material citado en la descripción se incorpora a la presente en forma expresa mediante esta referencia.

EJEMPLOS

[00184] Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo ilustrativo y no limitativo. Los expertos en la técnica reconocerán fácilmente diversos parámetros que podrían cambiarse o modificarse para producir resultados esencialmente similares.

Ejemplo 1: Siglec-9 se expresa en la superficie de células mieloides en tumores humanos

[00185] Para examinar la expresión de Siglec-9 en células inmunitarias en tumores

humanos, se procesaron tumores humanos primarios recién resecados mediante digestión enzimática, seguida de análisis de citometría de flujo. Tal como se muestra en la Fig. 1, en una muestra representativa de adenocarcinoma de pulmón, se detectó Siglec-9 en la superficie de macrófagos y granulocitos que se infiltran en el tumor, pero no en los linfocitos T. Se observaron perfiles de expresión de Siglec-9 similares en muestras de cánceres colorrectal, de hígado, de ovario y de cabeza y cuello. La caracterización adicional de la expresión de las células mieloides de Siglec-9 reveló que la expresión de Siglec-9 es mayor en las células HLA-DR^{lo}, que pueden caracterizarse como células supresoras derivadas de mieloides (MDSC).

Ejemplo 2: los dominios ECD de Siglec-9 muestran unión y expresión recombinante eficaz

[00186] Se evaluaron variantes de truncamiento de Siglec-9-hIgG1 para determinar la eficacia de expresión y unión a células de melanoma A375. El ECD de Siglec-9 consta de 3 dominios: el dominio IgV de unión al ligando se encuentra en el extremo N, seguido de los dominios C2T1 y C2T2. De los tres dominios, el dominio C2T2 se encuentra más cerca de la membrana plasmática. Tal como se muestra en la **Tabla 1**, solo la variante del ECD de Siglec-9-Fc que contiene los 3 dominios se expresó eficazmente en células Expi293. Para detectar la unión de Siglec-9-hIgG1, las células A375 se incubaron con 250 µg/ml de las variantes del ECD de Siglec-9-Fc durante 2 horas en hielo en la oscuridad, seguido de una incubación de 30 minutos con anti-IgG humana conjugado por fluorescencia (Jackson ImmunoResearch). La unión se evaluó mediante citometría de flujo con un BD FACS Canto y se analizó mediante el software FlowJo. Los datos de la **Tabla 1** muestran que el dominio de IgV es necesario para unirse a las células A375, de acuerdo con el dominio de IgV que funciona como el principal dominio de reconocimiento del ligando en el ECD de Siglec-9.

Tabla 1: expresión y unión celular de variantes del ECD de Siglec-9-Fc

Variante	Rendimiento (mg) por 250 ml	Unión celular
IgV-C2T1-C2T2-Fc	37,6	+
IgV-Fc	0,2	+
IgV-C2T1-Fc	1,7	+
C2T1-C2T2-Fc	0,4	-

Ejemplo 3: modificación genética de proteínas de fusión Siglec9-Fc: modelado de homología

[00187] La proteína de fusión de Siglec9-Fc se modificó genéticamente mediante la creación de un modelo de homología de Siglec9-IgV, que permite el diseño de mutaciones para mejorar la solubilidad y reequilibrar la distribución de carga. Se utilizaron cálculos de estabilidad y modelado de homología de proteínas basado en la estructura para diseñar variantes de Siglec-9 con una mejor solubilidad y redistribución de carga superficial, mediante el uso de modelado de proteínas y los módulos de diseño de proteínas de MOE (Molecular Operating Environment, Chemical Computing Group, Montreal, Canadá).

[00188] Brevemente, se creó un modelo de homología del dominio IgV de Siglec9 ("HM_S9") mediante el uso de la aplicación Protein Modeler en MOE 2019.01 (Molecular Operating Environment (MOE). Montreal (QC, Canadá): Chemical Computing Group ULC.; enero de 2019). La secuencia de aminoácidos primaria de Siglec9-IgV (SEQ ID NO: 7) se utilizó como secuencia de consulta y se describe en la **Fig. 2**. Se realizó una búsqueda de homología y PDB_ID 1O7V (estructura de alta resolución de Siglec-7) del Protein Data Bank ([www \(punto\) rcsb \(punto\) org/](http://www.pdb.org/)) se utilizó como plantilla para la consulta, que es aproximadamente 73% idéntica a la plantilla. La minimización de energía en todo el modelado de homología de proteínas se realizó con el campo de fuerza Amber10: EHT en MOE 2019.01 para generar un modelo refinado.

[00189] A continuación, se calcularon los parches superficiales electrostáticos e hidrofóbicos mediante el uso del modelo HM_S9 refinado para identificar residuos asociados con interacciones entre proteínas potencialmente problemáticas. Este análisis *in silico* se puede utilizar para predecir la agregación reversible, que normalmente surge de interacciones no covalentes relativamente débiles. Las interacciones hidrofóbicas pueden contribuir a interacciones no específicas de alta afinidad entre macromoléculas (Wildman, S.A., Crippen, G.M.; Prediction of Physiochemical Parameters by Atomic Contributions; J. Chem. Inf. Comput. Sci. 39 (1999) 868–873). Además, en muchas proteínas, incluidos los anticuerpos, las interacciones electrostáticas se han implicado en la formación de agregados autoasociados (Sharp K., Honig B.; Electrostatic Interactions in Macromolecules: Theory and Applications. Ann. Rev. Biophys. Biophys. Chem. 19 (1990) 301–332).

[00190] Se identificaron varios parches superficiales hidrofóbicos y con carga positiva. La mutagénesis dirigida al sitio *in silico* se realizó mediante el uso de la función de escaneo de

residuos en parches hidrofóbicos dirigidos a MOE, parches con carga positiva o parches hidrofóbicos más parches con carga positiva simultáneamente en el dominio IGV. Se introdujeron mutaciones simples, dobles, triples o cuádruples en cada variante. Las mutaciones se seleccionaron entre alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, lisina, serina, treonina, tirosina y valina.

[00191] Se tomaron muestras de aproximadamente 50 000 mutantes y se calcularon los cambios de estabilidad. Los mutantes que se construirán y probarán adicionalmente en cuanto a funciones, expresión, solubilidad y estabilidad se seleccionaron basándose en una estabilidad mejorada, parches con carga positiva reducidos y parches hidrofóbicos reducidos. La Siglec-9-Fc original se muestra en la SEQ ID NO: 10. La secuencia “WIYP” en los aminoácidos 50-53 se reemplaza con los cuatro aminoácidos indicados en S9.2-S9.7 (SEQ ID NO: 11-16, respectivamente; DIEG, SEQ ID NO: 11; SIET, SEQ ID NO: 12; SIEP, SEQ ID NO: 13; DIEP, SEQ ID NO: 14; YQES, SEQ ID NO: 15; THET, SEQ ID NO: 16). En S9.8-S9.22 (SEQ ID NO: 17-31), se realizan las sustituciones indicadas. Véase la Tabla de determinadas secuencias. (La numeración de los residuos mutados se ajusta como resultado del modelado molecular por MOE. El primer aminoácido de la secuencia de polipéptidos madura (S de SKLL...) es el residuo número 8.)

Ejemplo 4: Modificación genética de proteínas de fusión de Siglec9-Fc: reemplazo de residuos de bucle

[00192] Se comparó una estructura cristalina de alta resolución de Siglec-7 con un modelo de Siglec-9 (Alpheny, M.S., et ál.; High Resolution Crystal Structures of Siglec-7, Insights into Ligand Specificity in the Siglec Family; J. Biol. Chem. 278 (2003) 3372-3377). Cuando se compara con el bucle de Siglec-7 con carga negativa compuesto de VDSQTDSD (SEQ ID NO: 8), el bucle de Siglec-9 isostérico compuesto de SHGWIYPG (SEQ ID NO: 9) produce una superficie hidrofóbica más grande. Por lo tanto, se aplicó una ingeniería sistemática de proteínas de intercambio de bucles in silico; cada aminoácido del bucle de Siglec-7 se reemplazó por el residuo de Siglec-9 o se retuvo con el residuo de Siglec-7 hasta 8 residuos, lo que dio como resultado un total de 256 variantes que incluyen 255 mutantes y una variante de tipo salvaje. Se calculó el cambio de estabilidad para las 256 variantes. Se seleccionaron mutantes para una caracterización adicional basada en una estabilidad mejorada, parches con carga positiva reducidos y parches hidrofóbicos reducidos. Las secuencias de aminoácidos de estos mutantes, S9.23-S9.39, se muestran en las SEQ ID

NO: 32-39.

Ejemplo 5: Propiedades in silico mejoradas de las variantes de Siglec9-IgV modificadas genéticamente

[00193] Se calcularon propiedades biofísicas in silico que incluyen el cambio de estabilidad (el valor más negativo, más estable), área de parches de proteínas hidrofóbicas, área de parches de proteínas con carga positiva, área de parches de proteínas con carga negativa, punto isoeléctrico y cargas netas a pH 7,4, concentración de 100 mM de NaCl y 298 K y se compararon con la construcción original. Los resultados se muestran en la Fig. 3. Los valores negativos en la columna “Cambio de estabilidad” indican una mayor estabilidad. La mejora del cambio de estabilidad se debe principalmente a la redistribución de la carga y la reducción de las áreas superficiales hidrofóbicas expuestas. Dichos cambios generalmente dan como resultado una mayor expresión y producción de proteínas.

Ejemplo 6: Siglec-9-Fc se une a líneas celulares FcR negativas con afinidad moderada

[00194] Se usó la variante S9.1-hIgG1 (SEQ ID NO: 10) para evaluar la unión de Siglec-9-Fc a un panel de líneas celulares de cáncer. S9.1-hIgG1 contiene un ECD de Siglec-9 de secuencia nativa, con delección de los residuos de aminoácidos LQSKATSGVTQG (SEQ ID NO: 147), que se producen después del dominio C2T2 y antes del dominio transmembrana, y con la secuencia señal que se escinde durante la producción. Se incubaron cantidades de titulación de S9.1-hIgG1 con las líneas de células cancerosas enumeradas en la **Tabla 2** sustancialmente como se describe en el Ejemplo 2. Se calculó sustancialmente la Kd FACS como se describe en Drake y Klakamp, *Journal of Immunological Methods*, 2007.

Tabla 2: Afinidad de S9.1-hIgG1 para diversas líneas celulares

Tipo celular	Fuente de tejido	S9.1-hIgG1 Kd (nM)
A375	Melanoma	220
A549	Adenocarcinoma pulmonar	193
K562	Leucemia	12,9
293T	Riñón embrionario	175

[00195] Tal como se muestra en la **Tabla 2**, S9.1-hIgG1 se unió con mayor afinidad a las células de leucemia K562 en comparación con las otras líneas celulares de cáncer. Dado que las células K562 se derivan de células del linaje mieloide, expresan FcR en la superficie,

mientras que las otras líneas de células cancerosas no lo hacen. Por lo tanto, y sin limitarse por la teoría, la unión de S9.1-hIgG1 tanto a FcR como al ácido siálico en células de leucemia parece dar como resultado un efecto de unión cooperativo (véase el Ejemplo 7), en comparación con la unión de S9.1-hIgG1 solo a ácido siálico en células cancerosas que no expresan FcR. Esto puede explicar parcialmente la mayor afinidad de S9.1-hIgG1 por las células K562 en comparación con las otras células cancerosas que se probaron.

Ejemplo 7: Siglec-9-Fc se une con alta afinidad a las células supresoras derivadas de mieloides

[00196] Para examinar la unión de Siglec-9-Fc en células humanas primarias, se usó S9.A-mIgG1 para evaluar la afinidad de Siglec-9-Fc por las células supresoras derivadas de mieloides (MDSC). S9.A-mIgG1 (SEQ ID NO: 43) contiene el ECD de Siglec-9 de longitud completa (residuos de aminoácidos 1-348 de la SEQ ID NO: 1) fusionado mediante un enlazador de siete aminoácidos a un dominio Fc de IgG1 murina, donde la secuencia señal se escinde durante la producción. Las MDSC se generaron sustancialmente de la siguiente manera: los monocitos CD14+ se aislaron de donantes humanos sanos mediante el uso de un kit de enriquecimiento de monocitos humanos RosetteSep (StemCell) y se diferenciaron a 37 °C y CO₂ al 5% durante 7 días en medio RPMI que contiene 10 ng/ml de hGM-CSF (R&D) y 10 ng/ml de hIL-6 (R&D). La unión celular se evaluó al incubar MDSC con cantidades tituladas de S9.A-mIgG1 durante 2 horas en hielo en la oscuridad, seguido de una incubación de 30 minutos con anti-IgG de ratón conjugado por fluorescencia (Jackson ImmunoResearch). La unión se evaluó mediante citometría de flujo con un BD FACS Canto y se analizó mediante el software FlowJo. Se utilizó la variante S9.A-mIgG1, que tiene un Fc murino, porque la detección antihumana en las MDSC da como resultado una unión de fondo prohibitivamente alta. Tal como se muestra en la **Tabla 3**, la K_d FACS calculada en las MDSC para S9.A-mIgG1 estaba en el intervalo nM bajo para 3 donantes independientes, y fue ~10-100 veces más débil en la línea celular de cáncer de referencia, A549, que es una línea de células epiteliales de carcinoma de pulmón. Estos estudios muestran que Siglec-9-Fc se une con mayor afinidad a las células mieloides, como las MDSC, que a las células cancerosas. En consecuencia, estos estudios proporcionan más evidencia de un mecanismo de unión cooperativo, en el que Siglec-9-Fc se une tanto al FcR como al ácido siálico en las células mieloides, en comparación con la unión de Siglec-9-Fc solo al ácido siálico en las células cancerosas que no expresan FcR. Esto explicaría la afinidad mejorada

de S9.A-mIgG1 por MDSC en comparación con la línea celular de cáncer de pulmón A549, que no expresa FcR.

[00197] La Figura 15 muestra un modelo ilustrativo del mecanismo de acción de una molécula de fusión del ECD de Siglec-9-Fc (Siglec-9-Fc). Siglec-9-Fc se une al ligando (ácido siálico) en las células cancerosas a través de su resto del ECD de Siglec-9 (panel izquierdo). Basándose en los estudios de la presente, y sin limitarse a ninguna teoría, se cree que Siglec-9-Fc se une tanto a FcR como al ligando (ácido siálico) expresado en células mieloides (panel derecho). La unión se produce a través del resto Fc y el resto del ECD de Siglec-9, respectivamente, de la molécula Siglec-9-Fc mediante una interacción de unión cooperativa (o *cis*). En consecuencia, Siglec-9-Fc se une con mayor afinidad a las células mieloides en comparación con las células que no expresan FcR, lo que da como resultado un direccionamiento preferencial a las células mieloides in vivo.

Tabla 3: afinidad de S9.A-mIgG1 por MDSC de tres donantes y células A549

Tipo celular	S9.A-mIgG1 Kd (nM)
Donante de MDSC n.º 1	4,2
Donante de MDSC n.º 2	19,4
Donante de MDSC n.º 3	1,9
A549	228

15 **Ejemplo 8: Siglec-9-Fc repolariza de forma potente las MDSC.**

[00198] Se evaluó la capacidad de S9.A-hIgG1 (SEQ ID NO: 40) y S9.A-hIgG1 LALAPS (SEQ ID NO: 42) para repolarizar las MDSC. S9.A-hIgG1 (SEQ ID NO: 40) y S9.A-hIgG1 LALAPS (SEQ ID NO: 42) contienen el ECD de Siglec-9 de longitud completa (residuos de aminoácidos 1-348 de la SEQ ID NO: 1) fusionado mediante un enlazador de siete aminoácidos a un dominio Fc de IgG1 humana, donde la secuencia señal se escinde durante la producción. Para S9.A-hIgG1, el dominio Fc de IgG1 humana es un hIgG1 de secuencia natural, y para LALAPS S9.A-hIgG1, el dominio Fc de IgG1 humana contiene las sustituciones “LALAPS”. Como se describió anteriormente, LALAPS suprime

sustancialmente las interacciones Fc-FcR.

[00199] Se generaron MDSC humanas a partir de monocitos CD14+ como se describe en el Ejemplo 7, y luego se incubaron con 10 µg/ml de S9.A-hIgG1 o S9.A-hIgG1 LALAPS durante 48 horas a 37 °C y CO₂ al 5%. Los sobrenadantes se recogieron y las quimiocinas secretadas se analizaron mediante el uso del kit de panel de quimiocina proinflamatoria humana LEGENDplex (Biolegend). Tal como se muestra en la **Tabla 4**, S9.A-hIgG1 repolarizó de forma potente las MDSC hacia un fenotipo proinflamatorio, mientras que S9.A-hIgG1 LALAPS fue mucho menos eficaz. Esto muestra que la unión a FcR, además de la unión al ligando (ácido siálico), mejora significativamente la capacidad de Siglec-9-Fc para repolarizar las MDSC.

Tabla 4: expresión de quimiocinas de MDSC incubadas con S9.A-hIgG1 o S9.A-hIgG1 LALAPS

Analito	S9.A-hIgG1	S9.A-hIgG1 LALAPS	hIgG1
CCL3	68780 ± 25341	355 ± 295	207 ± 176
CCL4	16112 ± 4690	3505 ± 1371	792 ± 382
CCL5	1081 ± 294	23 ± 8	16 ± 4
CCL17	4585 ± 1429	401 ± 167	188 ± 41
CXCL1	11801 ± 1235	1135 ± 282	154 ± 77
CXCL9	306 ± 190	57 ± 26	68 ± 58
IL-8	280552 ± 18324	181326 ± 36223	11551 ± 5418

La unidad para la Tabla 4 es pg/ml. Los resultados se representan como media ± SEM, agrupados de 4 donantes. Los números en cursiva indican $p < 0,05$ cuando se comparan las variantes Siglec-9-Fc con el control del isotipo de hIgG1 en una prueba t de dos lados.

Ejemplo 9: Siglec-9 alivia la supresión de linfocitos T mediada por MDSC

[00200] El efecto del tratamiento con S9.1-hIgG1 (SEQ ID NO: 10) se evaluó en un sistema de cocultivo de MDSC-linfocitos T humanos. Brevemente, se generaron MDSC humanos como se describe en el Ejemplo 7. Se aislaron linfocitos T CD8+ autólogos de la sangre mediante el uso de un kit de cóctel de enriquecimiento de linfocitos T CD8+ humanos RosetteSep™ (StemCell). Las MDSC se trataron durante 48 horas con 10 µg/ml de S9.1-hIgG1 o IgG de control a 37 °C y CO₂ al 5%, seguido de cocultivo con linfocitos T CD8+

autólogos en presencia de CD3/CD28 activadores T humanos Dynabeads® en una proporción de 1:2:2 MDSC:linfocitos T:Dynabeads®. En algunas condiciones, los linfocitos T CD8+ incubados con CD3/CD28 Dynabeads® solo se trataron con S9.1-hlgG1. Todas las condiciones celulares se cultivaron durante 4 días a 37 °C y CO₂ al 5%, seguida de cuantificación de IFN γ en el sobrenadante del cultivo mediante ELISA (Thermo Fisher).

[00201] Tal como se muestra en la **Fig. 4**, S9.1-hlgG1 (denominado “S9-hlgG1” en la Fig. 4) alivió fuertemente la supresión de linfocitos T mediada por MDSC. S9.1-hlgG1 también tuvo un efecto sobre los linfocitos T CD8+ cultivados en presencia de CD3/CD28 Dynabeads® pero no MDSC. Las MDSC tratadas con S9.1-hlgG1 cultivada sola produjeron < 20 pg/ml de IFN γ (datos no mostrados). Se muestra la media $\pm$ SEM. Estos estudios muestran que, si bien Siglec-9-Fc puede mejorar la activación de los linfocitos T en ausencia de MDSC, puede mejorar de forma más potente la activación de los linfocitos T en presencia de MDSC al aliviar las señales inmunosupresoras de las células mieloides, por ejemplo, al bloquear el contacto de los ligandos de Siglec con las células mieloides.

Ejemplo 10: Siglec-9-Fc, pero no los anticuerpos de Siglec, alivia la supresión de linfocitos T mediada por MDSC

[00202] La capacidad de S9.A-hlgG1 (SEQ ID NO: 40) para aliviar la supresión de linfocitos T mediada por MDSC se comparó directamente con un panel de anticuerpos anti-Siglec funcionales. Las MDSC y los linfocitos T CD8+ autólogos se prepararon para el cultivo conjunto como se describe en el Ejemplo 9. Las MDSC se trataron con 15 μ g/ml de S9.A-hlgG1 o anticuerpos dirigidos contra Siglec-3, Siglec-7 o Siglec-9 que inducen la regulación por disminución del receptor objetivo o bloquean la unión del ligando cognado, durante 48 horas seguido de cocultivo con linfocitos T CD8+ y CD3/CD28 Dynabeads® durante 4 días. Se evaluó IFN γ en el sobrenadante del cultivo mediante ELISA.

[00203] Tal como se muestra en la **Fig. 5**, los anticuerpos anti-Siglec solos o en combinación fueron incapaces de aliviar la supresión de linfocitos T mediada por MDSC tan eficazmente como S9.A-hlgG1. Se muestra la media $\pm$ SEM. El aS9-1 y aS9-2 son dos anticuerpos Siglec-9 diferentes. El valor p se determinó al comparar S9.A-hlgG1 con la condición de combinación de triple anticuerpo. Este estudio proporciona más pruebas del mecanismo de unión cooperativa que se muestra en la Figura 15. Siglec-9-Fc es capaz de lograr este mecanismo, mientras que los anticuerpos anti-Siglec, incluidos los anticuerpos anti-Siglec-9, no pueden. De manera adicional, se obtuvo una proteína de fusión de Siglec-

9-Fc humana disponible comercialmente (R&D Systems, n.º de catálogo 1139-SL-05, “Recombinant Human Siglec-9 Fc Chimera Protein, CF,” en [www \(punto\) rndsystems \(punto\) com](http://www.rndsystems.com)) y se evaluó en el ensayo anterior. No mostró ninguna actividad significativa (no se muestran los datos).

5 ***Ejemplo 11: Siglec-9-Fc con unión intacta de FcR alivia de manera potente la supresión de linfocitos T mediada por MDSC***

[00204] La potencia de S9.1-hIgG1 (SEQ ID NO: 10) se comparó con S9.A-hIgG1 LALAPS (SEQ ID NO: 42) en el sistema de cocultivo de MDSC-linfocitos T humanos. Se prepararon MDSC y linfocitos T CD8⁺ autólogos para cocultivar como se describe en el Ejemplo 9. Las MDSC se trataron con las cantidades indicadas de S9.1-hIgG1, S9.A-hIgG1 LALAPS, o controles de isotipo durante 48 horas, seguido de cocultivo con linfocitos T CD8⁺ y CD3/CD28 Dynabeads® durante 4 días. Se evaluó IFN γ en el sobrenadante del cultivo mediante ELISA.

[00205] Tal como se muestra en la **Fig. 6**, S9.1-hIgG1, que tiene un acoplamiento a FcR intacto, es mucho más potente para aliviar la supresión de linfocitos T mediada por MDSC en comparación con la variante LALAPS. Se calculó que la EC₅₀ para S9.1-hIgG1 en este ensayo era 17,5 nM, que está en el intervalo de K_d FACS en las MDSC descrito en la **Tabla 3**. Además, estos resultados son congruentes con los datos de la **Tabla 4**, que mostraron que Siglec-9-Fc con acoplamiento intacto a FcR es más potente en la repolarización de MDSC según lo medido por la producción de quimiocinas en comparación con una variante de Siglec-9-Fc con la mutación LALAPS.

Ejemplo 12: Siglec-9-hIgG1 y Siglec-9-hIgG1 NSLF repolarizan MDSC de manera equivalente de una manera dependiente de la dosis

[00206] Se evaluó una variante de Siglec-9-Fc que contenía la mutación NSLF en la parte de Fc de la proteína de fusión para determinar la capacidad de repolarizar MDSC humanas. La mutación NSLF altera la interacción entre IgG1 Fc humana y C1q humano (componente del complemento 1q) y CD16/Fc γ RIII humano, que induce citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC). Se generaron MDSC a partir de monocitos CD14⁺ como se describió anteriormente. El día 7, las MDSC se trataron con las cantidades indicadas de S9.A-hIgG1 (SEQ ID NO: 40) o S9.A-hIgG1 NSLF (SEQ ID NO: 41) durante 48 horas a 37 ° C y CO₂ al 5%. Los sobrenadantes se recogieron y las quimiocinas secretadas se analizaron mediante el uso del kit de panel de quimiocina proinflamatoria humana

LEGENDplex™ (Biolegend).

[00207] La **Fig. 7** muestra que S9.A-hIgG1 y S9.A-hIgG1 NSLF repolarizaron MDSC de manera equivalente, como se demuestra por un aumento similar en las quimiocinas CCL5 y CCL17 representativas. Estos estudios muestran que la fijación del complemento y la ADCC no son necesarias para la actividad de Siglec-9-Fc. Además, la capacidad de usar un NSLF que contiene hIgG1 para lograr los efectos deseados en las células mieloides reduce la posibilidad de efectos perjudiciales que de otro modo podrían surgir de la activación del complemento y ADCC.

Ejemplo 13: Siglec-9-hIgG1 y Siglec-9-hIgG1 NSLF aumentan la expresión de CD86 y disminuyen la expresión de CD163 en las MDSC.

[00208] Se generaron MDSC humanas a partir de monocitos CD14+ como se describió anteriormente. El día 7, las MDSC se trataron con las cantidades indicadas de S9.A-hIgG1 (SEQ ID NO: 40) o S9.A-hIgG1 NSLF (SEQ ID NO: 41) durante 48 horas a 37 ° C y CO₂ al 5%, después de lo cual se cuantificó la expresión de CD86, un marcador proinflamatorio, y CD163, un marcador de macrófagos M2, mediante el uso de anticuerpo anti-CD86 (clon IT2.2, Biolegend) y anticuerpo anti-CD163 (clon GHI/61, BD).

[00209] Tal como se muestra en la **Fig. 8**, el tratamiento con cualquiera S9.A-hIgG1 o S9.A-hIgG1 NSLF condujo a un aumento dependiente de la dosis en CD86 y una disminución de CD163, lo cual es congruente con una repolarización de los MDSC hacia un fenotipo proinflamatorio (por ejemplo, de un fenotipo inmunosupresor M2 a un fenotipo activador M1). Se muestra la media ± SEM.

Ejemplo 14: Siglec-9-hIgG1 y Siglec-9-hIgG1 NSLF repolarizan macrófagos tumorales in vivo en ratones humanizados.

[00210] El efecto del tratamiento con Siglec-9-Fc *in vivo* se evaluó mediante el uso de un modelo de ratón humanizado. Se les injertaron a ratones HuNOG-EXL inmunodeficientes que expresan transgenes humanos de IL-3 y GM-CSF células progenitoras hematopoyéticas CD34+ humanas (Taconic) para reconstituir eficazmente la respuesta inmunitaria humana. Se les implantó a los ratones por vía subcutánea 3x10⁶ células de melanoma humano A375. 16 días después, cuando los tumores tenían aproximadamente 300 mm³, los ratones fueron tratados dos veces, con 3 días de diferencia, con una inyección intraperitoneal (i.p.) de 10 mg/kg de S9.1-hIgG1 (SEQ ID NO: 10), S9.A-hIgG1 NSLF (SEQ ID NO: 41) o control de isotipo hIgG1. El tejido se analizó 24 horas después de la 2.^a dosis.

[00211] Tal como se muestra en las **Fig. 9A-9C**, el tratamiento *in vivo* con S9.1-hIgG1 o S9.A-hIgG1 NSLF confirmó los resultados *in vitro* observados con MDSC humanas. Los porcentajes de los macrófagos CD14+CD163+ tipo M2 en relación con las células CD45+ humanas disminuyeron en los tumores de los ratones tratados con Siglec-9-Fc en comparación con los controles de isotipo. Véase la **Fig. 9A**. (S9.1-hIgG1 generó un efecto *in vivo* más potente que S9.A-hIgG1 NSLF en el experimento que se muestra en la **Fig. 9A**; sin embargo, S9.A-hIgG1 NSLF generó un efecto *in vivo* más potente que S9.1-hIgG1 en un experimento repetido (datos no mostrados)). Los macrófagos M2 identificados por el marcador de superficie CD206 también se redujeron en tumores de ratones tratados con Siglec -9-Fc. Véase la Figura 9B. Además, se redujo la expresión en la superficie de CD206 en macrófagos CD14+ en el tumor. Véase la Figura 9C. Con respecto a la **Fig. 9B** y la **Fig. 9C**, S9.1-hIgG1 generó un efecto *in vivo* más potente que S9.A-hIgG1 NSLF. La media se muestra en cada panel de la **Fig.9**.

Ejemplo 15: Siglec-9-Fc no da como resultado el agotamiento de las células sanguíneas *in vivo* en ratones humanizados

[00212] Los ratones HuNOG-EXL portadores de tumores tratados con S9.1-hIgG1 o S9.A-hIgG1 NSLF también se evaluaron para verificar el agotamiento de células sanguíneas con un recuento sanguíneo completo estándar. Se extrajo sangre el día de la extracción de tejido (24 horas después de la segunda dosis de 10 mg/kg) mediante punción cardíaca y se colocó en tubos de extracción de sangre que contenían heparina.

[00213] La **Fig. 10** muestra que ni S9.1-hIgG1 ni S9.A-hIgG1 NSLF dieron como resultado cambios significativos en la composición de las células sanguíneas en comparación con los controles de isotipo. (Se muestra la media.) Si bien S9-hIgG1 se acopla con CD16/FcRIII y, por lo tanto, es capaz de inducir ADCC, sorprendentemente no se observó disminución de los principales tipos de células sanguíneas.

Ejemplo 16: los ratones transgénicos Siglec-3/7/9 BAC responden menos al tratamiento anti-PD-L1 en el contexto del crecimiento tumoral MC38.

[00214] Se crearon ratones C57BL/6 transgénicos del cromosoma artificial bacteriano (BAC) que expresaban Siglec-3, Siglec-7 y Siglec-9 humana y se evaluó el crecimiento tumoral singénico MC38 en estos ratones. A los ratones S3/7/9 BAC se les implantaron por vía subcutánea células MC38 (línea celular de adenocarcinoma de colon murino), y una vez que los tumores alcanzaron un promedio de 100 mm³, los ratones se trataron por vía i.p.

con 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-L1 (BM1) 2 veces por semana durante 3 semanas.

[00215] Tal como se muestra en la **Fig.11**, los ratones S3/7/9 BAC respondieron menos al tratamiento anti-PD-L1 en comparación con los controles WT. Se muestra la media $\pm$ SEM. Estos estudios muestran que el bloqueo de la función de la proteína Siglec puede mejorar la respuesta a los tratamientos que inhiben PD-1 o PD-L1, como la terapia con anticuerpos anti-PD-1 o anti-PD-L1.

Ejemplo 17: la monoterapia con Siglec-9-Fc retrasa el crecimiento del tumor MC38.

[00216] Se produjo Siglec-9-mIgG2a (S9.B-mIgG2a; SEQ ID NO: 44) para analizar el efecto de Siglec-9-Fc en un modelo de tumor singénico de ratón con un Fc que maximizaría una interacción Fc-FcR. A ratones S3/7/9 BAC se les implantaron células MC38 por vía subcutánea. Una vez que los tumores alcanzaron un promedio de 100 mm³, los ratones se trataron por vía i.p. con 10 mg/kg de S9.B-mIgG2a 2 veces por semana durante 3 semanas.

[00217] Tal como se muestra en la **Fig. 12**, S9.B-mIgG2a retrasa el crecimiento del tumor MC38 en comparación con el control del isotipo, con un 20% de inhibición del crecimiento del tumor el día 22 después de la implantación. Se muestra la media $\pm$ SEM.

Ejemplo 18: Siglec-9-Fc se combina con anti-PD-L1 para reducir el crecimiento del tumor MC38.

[00218] A los ratones S3/7/9 BAC se les implantaron células MC38 por vía subcutánea. Una vez que los tumores alcanzaron un promedio de 100 mm³, los ratones se trataron por vía i.p. con 10 mg/kg de S9.B-mIgG2a y 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-L1 2 veces por semana durante 3 semanas.

[00219] Tal como se muestra en la **Fig. 13**, la combinación de Siglec-9-Fc con anticuerpo anti-PD-L1 disminuyó el crecimiento del tumor MC38 en mayor medida que el tratamiento con anticuerpo anti-PD-L1 solo. El día 20 después de la implantación, se logró una inhibición del crecimiento tumoral del 41% en comparación con la monoterapia con anticuerpos anti-PD-L1. Se muestra la media $\pm$ SEM. Estos estudios muestran que la combinación de Siglec-9-Fc con un inhibidor de PD-1 o PD-L1, tal como un anticuerpo anti-PD-1 o anti-PD-L1, puede mejorar la respuesta antitumoral.

Ejemplo 19: Siglec-9-Fc puede bloquear la unión celular de varios miembros de la familia Siglec

[00220] Se generaron MDSC humanas a partir de monocitos CD14+ como se describió anteriormente. El día 7, las MDSC se incubaron primero con cantidades de titulación de

S9.1-hlgG1 durante 20 minutos en hielo en la oscuridad seguido de incubación con los miembros de la familia Siglec indicados como proteínas de fusión de IgG1 de ratón durante 2 horas adicionales en hielo en la oscuridad. La unión se detectó con un anti-IgG de ratón conjugado de forma fluorescente (Jackson ImmunoResearch) y se analizó mediante citometría de flujo. La unión celular de cada miembro de la familia Siglec se normalizó al control sin bloqueo (no se añadió S9.1-hlgG1).

[00221] Tal como se muestra en la **Fig. 14**, S9.1-hlgG1 bloqueó la unión de Siglec-3, Siglec-5, Siglec-7, Siglec-9 y Siglec-10 a la superficie de las MDSC. Estos estudios muestran que Siglec-9-Fc es ventajosa por ser un potente inhibidor de la actividad de múltiples proteínas Siglec.

[00222] Se realizaron experimentos de repolarización similares a los descritos en los Ejemplos 13 y 14 mediante el uso de S.9A-mIgG1 y otras fusiones de dominio Fc de proteína Siglec-mIgG1. Tal como se muestra en la **Fig. 16A** y la **Fig. 16B**, Siglec-9-Fc repolariza de forma única las MDSC en comparación con otras fusiones de Siglec-Fc. Los marcadores CD40 y CD86 aumentaron y CD163 y CD206 disminuyeron, lo que indica la repolarización de las MDSC a un fenotipo más proinflamatorio.

Ejemplo 20: Análisis de variantes de Siglec-9-Fc para determinar la estabilidad, afinidad de unión, función y propiedades farmacocinéticas.

[00223] Las variantes de Siglec-9-Fc se evalúan para determinar la estabilidad con un ensayo de desplazamiento térmico de proteínas y una incubación prolongada a 40 °C. Para el ensayo de desplazamiento térmico, se determina una temperatura de fusión mediante el uso de una máquina de PCR en tiempo real. La afinidad de unión de las variantes de Siglec-9-Fc se mide mediante citometría de flujo en células de melanoma humano A375, como se describe en el Ejemplo 2. La función biológica se evalúa como la capacidad para aliviar la supresión mediada por MDSC en el ensayo de cocultivo de MDSC-linfocitos T, como se describe en el Ejemplo 9. Las propiedades farmacocinéticas (PK) se evalúan *in vitro* mediante el uso de un ensayo de unión a matriz extracelular con placas Matrigel, o *in vivo* con una evaluación estándar de PK en ratones.

Ejemplo 21: Evaluación de marcadores farmacodinámicos en ratones humanizados después del tratamiento con Siglec-9-Fc.

[00224] Los ratones humanizados se generan como se describe en el Ejemplo 14. Se les implantó a estos ratones por vía subcutánea 3×10^6 células de melanoma humano A375. 2-

3 semanas después, cuando los tumores tenían aproximadamente 300 mm³, los ratones se tratan dos veces, con 3 días de diferencia, con una inyección i.p. de 10 mg/kg de Siglec-9-Fc o control de isotipo hIgG1. El tejido se analiza 24 horas después de la 2.^a dosis. Se evalúa un efecto farmacodinámico (PD) en el suero mediante el uso de kits de panel de citocinas y quimiocinas LEGENDplex (Biolegend) o un ELISA sándwich estándar. Por separado, las células CD45+ humanas en el bazo y tumor se aíslan mediante el uso de microesferas CD45 humanas (Miltenyi) y se genera un perfil de expresión transcripcional mediante el uso de un panel de inmunidad innata mieloide de nanocadena.

Ejemplo 22: Análisis de un efecto de combinación de Siglec-9-Fc con anti-PD-L1 o anti-TRP1 en estudios de modelos de tumores singénicos.

[00225] Las líneas celulares de tumores singénicas se inyectan por vía intravenosa o se implantan subcutáneamente en ratones S3/7/9 BAC. En el entorno subcutáneo, una vez que los tumores alcanzan un promedio de 100 mm³, los ratones se tratan por vía i.p. con 10 mg/kg de Siglec-9-Fc sola o en combinación con 3 mg/kg de anticuerpo anti-PD-L1 2 veces por semana durante 3 semanas. Se mide el crecimiento tumoral 2-3 veces por semana con calibres. El criterio de valoración experimental es 50 días o cuando los tumores alcanzan los 2000 mm³. La reducción del crecimiento tumoral, el aumento de la supervivencia, la mayor afluencia de linfocitos T en los tumores y la reducción de CD163 o CD206 en los macrófagos tumorales son algunos de los indicadores de un efecto anticanceroso de Siglec-9-Fc.

[00226] En el entorno intravenoso, las células de melanoma de ratón B16F10 se inyectan a través de la vena de la cola. 24 horas después de la implantación, los ratones se tratan por vía i.p. con un anticuerpo anti-TRP1, que reconoce un antígeno tumoral altamente expresado en las células B16F10 y conduce a la muerte de las células tumorales mediante citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP). Dos veces por semana hasta el final del estudio, los ratones también serán tratados por vía i.p. con Siglec-9-Fc solo o en combinación con anticuerpo anti-TRP1. La duración típica del estudio es de aproximadamente 2 semanas. Al final del estudio, se recolectan los pulmones de los ratones y se cuentan los nódulos tumorales. Una reducción de los nódulos tumorales sería indicativa de un efecto anticanceroso con el tratamiento con Siglec-9-Fc.

Ejemplo 23: Efecto de Siglec-9-Fc sobre marcadores de la superficie celular de

macrófagos

[00227] Las células mieloides tanto del SNC como de los órganos periféricos son inherentemente plásticas en su fenotipo y función. Esto puede ser modelado por macrófagos *in vitro*, que pueden dividirse en macrófagos de tipo M1 y M2, que muestran diferentes potenciales, fenotipos y actividades fagocíticas e inflamatorias. En los órganos periféricos, se cree que los macrófagos asociados con el fenotipo M1 son más proinflamatorios y antimicrobianos, mientras que los macrófagos similares a M2 son más homeostáticos y antiinflamatorios. Dentro del SNC, la microglía en condiciones homeostáticas también expresa marcadores M2 como CD200R, CD163, lo que sugiere funciones reguladoras en este tipo de células.

[00228] El efecto de Siglec-9-Fc sobre varios marcadores de la superficie celular de macrófagos M1 y M2 se examina de la siguiente manera. Los macrófagos primarios humanos se tratan con Siglec-9-Fc (por ejemplo, 10 µg/ml) en RPMI1640 completo durante 48 horas. Luego, las células se recolectan y se someten a citometría de flujo, mediante el uso de anticuerpos específicos para marcadores M1 (como CD16, MHC Clase II, CD86), marcadores M2 (como CD200R, Dectin-1, CD163) y un marcador pan-macrófago que incluye CD14 y otros.

Ejemplo 24: Expresión de ácido siálico en células tumorales

[00229] La expresión de ácido siálico en varios tipos de tumores Fc se evaluó mediante inmunohistoquímica. Un tumor de matriz múltiple (Pantomics) que contiene muestras humanas de cáncer suprarrenal, de vejiga, mama, óseo, cerebral, de esófago, de estómago, de intestino delgado, de colon, de recto, renal, de hígado, de pulmón, linfoma, de ovario, de páncreas, de próstata, de piel, testicular, de tiroides y útero se tiñeron con 0,1 µg/ml de S9.A-mIgG1 y se visualizaron por detección colorimétrica. Las muestras de tumor se puntuaron cualitativamente según la intensidad y la prevalencia de la tinción (1+ de baja intensidad y/o prevalencia, 2+ intensidad o prevalencia media, y 3+ alta intensidad o prevalencia) como se muestra en la **Fig.17**. Las puntuaciones de varios tipos de tumores se resumen en la Tabla 5.

Tabla 5: intensidad de tinción con ácido siálico en varios cánceres humanos

Sitio de órganos	Intensidad de tinción	Sitio de órganos	Intensidad de tinción

Cáncer suprarrenal	3+
Cáncer de vejiga	2+ a 3+
Cáncer de mama	2+ a 3+
Cáncer óseo	2+
Cáncer cerebral	2+ a 3+
Cáncer de esófago	2+
Estómago	2+
Cáncer de intestino delgado	2+
Cáncer de colon	2+
Cáncer de recto	2+
Cáncer renal	2+

Cáncer hepático	2+ a 3+
Cánceres de pulmón	2+ a 3+
Linfoma	2+ a 3+
Cáncer de cabeza y cuello	1+ a 2+
Cáncer de ovario	2+ a 3+
Cáncer pancreático	2+
Cáncer de próstata	2+ a 3+
Cáncer de piel	2+
Cáncer testicular	1+ a 2+
Cáncer de tiroides	2+
Cáncer de útero	2+

[00230] Se observó unión de Siglec-9-Fc en todos los tipos de tumores, lo que indica la presencia de células que expresan ácido siálico en las muestras de tumores. Por lo tanto, Siglec-9-Fc puede atacar estos tipos de tumores. Los tipos de tumores que alcanzan una intensidad de tinción de 2+ o mayor puede mostrar un direccionamiento más eficaz de Siglec-9-Fc.

Ejemplo 25: unión de variantes de Siglec-9-Fc a células tumorales

[00231] Las variantes de S9.1 Fc se expresaron y evaluaron para determinar la unión a las células tumorales y la actividad funcional en las MDSC, mediante el uso de métodos similares a los descritos en el Ejemplo 6 (unión) y el Ejemplo 13 (actividad/expresión de marcador de MDSC). Las variantes también se evaluaron para determinar el contenido de monómeros mediante el uso de cromatografía de exclusión por tamaño y para determinar la estabilidad con un ensayo de desplazamiento térmico de proteínas e incubación prolongada a 40 °C. Para el ensayo de desplazamiento térmico, se determinó una temperatura de fusión mediante el uso de PCR en tiempo real.

[00232] Los datos se resumen en la **Figura 18**. Las variantes de S9.1 Fc mostraron una

unión reducida a las células tumorales A375 y una actividad funcional reducida en las MDSC, según se midió mediante la inducción de CD86 o la regulación por disminución de CD163. Un análisis de correlación mostró que la unión a células tumorales se correlacionó directamente con la inducción de CD86 (**Fig. 19A**). Se observó una tendencia similar para CD163 (datos no mostrados). Las variantes de S9.1 Fc generalmente tuvieron un impacto neutro o positivo sobre el rendimiento de producción y la estabilidad de la proteína. Sin embargo, los aumentos en el rendimiento o la estabilidad térmica se correlacionaron inversamente con la unión a células tumorales (**Fig. 19B, Fig. 19C**). Estos datos demuestran que determinadas variantes de S9.1 Fc mejoraron la expresión o la estabilidad de la proteína, pero redujeron la potencia farmacológica.

Ejemplo 26: Siglec-9-Fc reduce los nódulos pulmonares en un modelo de metástasis tumoral intravenoso

[00233] Para analizar el efecto de Siglec-9-mIgG2a en un entorno tumoral intravenoso, se inyectaron células de melanoma de ratón B16F10 a través de la vena de la cola en ratones S3/7/9 BAC o WT. 24 horas después de la implantación, todos los ratones se trataron por vía i.p. con 27 µg de anti-TRP1, que reconoce un antígeno tumoral altamente expresado en las células B16F10 y conduce a la muerte de las células tumorales mediante citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP). Además, comenzando 24 horas después de la implantación, los ratones fueron tratados por vía i.p. una vez cada 3 días con 10 mg/kg de control de isotipo S9.B-mIgG2a o mIgG2a hasta el final del estudio. 15 días después de la implantación, se recolectaron los pulmones de los ratones y se contaron los nódulos tumorales.

[00234] Tal como se muestra en la **Fig.20**, los ratones S3/7/9 BAC tratados con S9.B-mIgG2a (S9-Fc) tuvieron una reducción significativa en los nódulos pulmonares en comparación con ratones S3/7/9 BAC tratados con control de isotipo. Se muestra la media. **p<0,01, prueba t de dos lados. Estos resultados sugieren que Siglec-9-Fc puede ser eficaz en el tratamiento del cáncer metastásico. Además, los resultados también sugieren que Siglec-9-Fc mejora la actividad ADCC y/o ADCP de anti-TRP1.

Ejemplo 27: la monoterapia con Siglec-9-Fc inhibe significativamente el crecimiento del tumor E0771

[00235] La capacidad de Siglec-9-Fc para reducir el crecimiento de tumores sólidos se probó en el modelo de cáncer de mama singénico E0771. Este modelo de tumor es

relativamente rico en contenido de células mieloides. A ratones S3/7/9 BAC se les implantaron células E0771 por vía subcutánea. Una vez que los tumores alcanzaron un promedio de 100 mm³, los ratones se trataron por vía i.p. con 20 mg/kg de S9.B-mIgG2a o control de isotipo 2 veces por semana durante 3 semanas.

5 **[00236]** Tal como se muestra en la **Fig. 21**, la monoterapia con S9.B-mIgG2a inhibe el crecimiento tumoral en comparación con el control de isotipo. Se muestra la media $\pm$ SEM. * $p < 0,05$, prueba t de dos lados en todos los puntos de tiempo mostrados. Estos datos indican que Siglec-9-Fc tiene eficacia en el tratamiento de tumores en los que están presentes células mieloides.

10 ***Ejemplo 28: Siglec-9-hIgG1 NSLF muestra unión cooperativa entre el ácido siálico y los receptores Fc γ***

[00237] Para determinar el efecto de la participación del receptor Fc γ en la unión de Siglec-9-Fc, se evaluaron S9-hIgG1 NSLF (SEQ ID NO: 48, con la secuencia señal escindida durante la producción) y S9.A-hIgG1 LALAPS (SEQ ID NO: 42, con la secuencia señal escindida durante la producción) para determinar la unión a las MDSC. Se generaron MDSC como se describió anteriormente y se incubaron con cantidades tituladas de S9-hIgG1 NSLF durante 2 horas en hielo en la oscuridad, seguido de una incubación de 30 minutos con anti-IgG de ratón conjugado por fluorescencia (Jackson Immunoresearch). La unión se evaluó mediante citometría de flujo con un BD FACS Canto y se analizó mediante el software

15 FlowJo™. Tal como se muestra en la **Fig. 22**, la Kd FACS calculada en las MDSC para S9-hIgG1 NSLF estaba en el intervalo nM bajo (**Fig. 22A**) y fue ~75 veces más débil con S9.A-hIgG1 LALAPS (**Fig. 22B**). La Kd FACS calculada para S9.A-hIgG1 LALAPS fue más similar a la Kd FACS calculada previamente para S9.A-hIgG1 (SEQ ID NO: 40) en la línea celular de cáncer de referencia, A549, que no expresa receptores Fc γ (**Fig. 22C**). Estos estudios

20 muestran que Siglec-9-Fc se une con mayor afinidad a las células mieloides primarias humanas cuando la unión del receptor Fc-Fc γ está intacta y proporcionan evidencia adicional de un mecanismo de unión cooperativo.

25 ***Ejemplo 29: Siglec-9-Fc muestra una amplia unión de restos de ácido siálico***

[00238] Para evaluar la unión de varias Siglec a distintos glicanos de ácido siálico, se tiñó una matriz de glicanos compuesta por 300 restos de glicanos diferentes, incluidos glicanos que contienen ácido siálico y glicanos sin ácido siálico, con Siglec-3-Fc, Siglec-5-Fc, Siglec-7-Fc, Siglec-10-Fc y Siglec-15-Fc de R&D systems; Siglec-9-hIgG1 (SEQ ID NO:40, con la

30

secuencia señal escindida durante la producción); o un control de isotipo. La unión se evaluó mediante el uso de un anticuerpo antihumano marcado con fluorescencia. Los datos se normalizaron y se calcularon los valores de fluorescencia normalizados. La tinción de un subconjunto de ácido siálico que contiene glicanos se muestra en la **Fig.23**. Siglec-9-hlgG1

5 mostró unión potente a muchos, pero no a todos los tipos de restos de ácido siálico. La unión de Siglec-3-Fc, Siglec-5-Fc, Siglec-7-Fc, Siglec-10-Fc y Siglec-15-Fc fue generalmente más restringida. Siglec-9-hlgG1 se unió a todos los ligandos de Siglec 10 y 15, la mayoría de los ligandos de Siglec 3 y 7 y alrededor de la mitad de los ligandos de Siglec 5. Estos resultados muestran que Siglec-9-hlgG1 es un bloqueador eficaz de

10 múltiples ligandos de Siglec diferentes en comparación con otras construcciones de Siglec-Fc y, por lo tanto, puede tener ventajas en un entorno terapéutico.

Ejemplo 30: Siglec-9-hlgG1 NSLF muestra una unión mejorada a células inmunitarias innatas en comparación con Siglec-9-hlgG1 en sangre humana

[00239] Para demostrar adicionalmente que la unión cooperativa de Siglec-9-Fc puede

15 ocurrir en sangre entera, se evaluó la unión de Siglec-9-Fc en la sangre de donantes humanos sanos. Se incubaron 100 µl de sangre entera con diluciones en serie de S9-hlgG1 conjugada con Alexa 647 (SEQ NO. 48, con la secuencia señal escindida durante la producción) o S9-hlgG1 NSLF (SEQ NO. 45, con la secuencia señal escindida durante la producción). Se lisaron glóbulos rojos (RBC) y todas las muestras se adquirieron en BD

20 Fortessa™. Se calcularon la intensidad de fluorescencia media (MFI) y % de unión relativa a IgG. La S9-hlgG1 NSLF mostró una unión mejorada a los monocitos sanguíneos en comparación con S9-hlgG1 (**Fig. 24A**). Esto es congruente con el aumento deseado en la afinidad de S9-hlgG1 NSLF por FcγRIIIa en comparación con hlgG1 de tipo salvaje. La unión más alta de S9-hlgG1 NSLF se observó en monocitos, con un grado más bajo de unión

25 observado en granulocitos, células NK y linfocitos B, y unión mínima a linfocitos T y plaquetas (**Fig. 24B**). Estos datos demuestran que Siglec-9-Fc se une a células inmunitarias en presencia de inmunoglobulinas séricas, en particular a monocitos, granulocitos y células NK.

Ejemplo 31: Siglec-9-hlgG1 NSLF restaura la proliferación de linfocitos T

[00240] El efecto de Siglec-9-hlgG1 NSLF (SEQ ID NO:45, con la secuencia señal escindida durante la producción) se determinó mediante el uso de una metodología similar a la descrita en el Ejemplo 10 y la Figura 5. Se generaron MDSC a partir de monocitos humanos mediante

cultivo con GM-CSF e IL-6 durante 5-6 días. Las MDSC se recolectaron y se cultivaron conjuntamente con linfocitos T CD8⁺ autólogos en presencia de anticuerpos anti-CD3 y anti-CD28 y ya sea Siglec-9-hIgG1 NSLF o IgG de control. Se evaluó la proliferación de linfocitos T después de 3-5 días. Tal como se muestra en la **Fig. 25A**, la presencia de MDSC inhibió la proliferación de linfocitos T, que fue restaurada por Siglec-9-hIgG1 NSLF. La potencia de Siglec-9-hIgG1 NSLF se evaluó en una respuesta a la dosis, tal como se muestra en la **Fig. 25B**. Se observó una EC50 nM de un sólo dígito (~1-2 nM) en la restauración de la proliferación de linfocitos T.

Ejemplo 32: Siglec-9-hIgG1 NSLF muestra una mayor potencia en comparación con Siglec-9-hIgG1

[00241] Siglec-9-hIgG1 NSLF (SEQ ID NO:45, con la secuencia señal escindida durante la producción) se comparó directamente con Siglec-9-hIgG1 (SEQ NO. 48, con la secuencia señal escindida durante la producción) en el ensayo de linfocitos T MDSC descrito en el Ejemplo 10. Tal como se muestra en la **Fig. 26**, Siglec-9-hIgG1 NSLF demostró potencia mejorada, en ~10 veces, en comparación con Siglec-9-hIgG1. Tomados en conjunto, estos datos demuestran un efecto potente para Siglec-9-hIgG1 NSLF en el alivio de la supresión mieloide de linfocitos T.

Ejemplo 33: Siglec-9-hIgG1 NSLF induce la expresión de citocinas congruente con la repolarización

[00242] La inducción de diferentes citocinas, quimiocinas y moléculas coestimuladoras por Siglec-9-hIgG1 NSLF (SEQ NO. 45, con la secuencia señal escindida durante la producción) se analizó por RNAseq en las MDSC. Tal como se muestra en la **Fig. 27**, Siglec-9-hIgG1 NSLF indujo un perfil de expresión génica potente cuando se incubó con MDSC, y este perfil fue congruente con la repolarización. También se observaron perfiles similares con macrófagos y células dendríticas (datos no mostrados).

Ejemplo 34: Siglec-9-hIgG1 NSLF repolariza las células mieloides supresoras mejor que otras vías de puntos de control

[00243] Siglec-9-hIgG1 NSLF (SEQ NO. 45, con la secuencia señal escindida durante la producción) se comparó directamente con anticuerpos dirigidos a otras vías de puntos de control inmunitarios para determinar la capacidad de repolarizar células mieloides supresoras. Tal como se muestra en la **Fig. 28**, Siglec-9-hIgG1 NSLF es muy eficaz para repolarizar las MDSC en comparación con esos anticuerpos. Anti-Siglec-15, anti-LILRB2 y

anti-PD-L1 no pueden inducir una regulación por incremento de CD86 o una regulación por disminución de CD206 en la superficie de las MDSC en la medida de Siglec-9-hIgG1 NSLF. Estos resultados demuestran el potencial de Siglec-9-hIgG1 NSLF para ser una terapia altamente eficaz, potencialmente más eficaz que los inhibidores de puntos de control.

5 ***Ejemplo 35: Siglec-9-Fc se combina con anti-PD-L1 para reducir el crecimiento del tumor E0771***

[00244] Mediante el uso de la metodología descrita en el Ejemplo 27, se determinó el efecto de Siglec-9-Fc en combinación con anti-PD-L1. A ratones S3/7/9 BAC se les implantaron células E0771 por vía subcutánea. Una vez que los tumores alcanzaron un promedio de 100
10 mm³, los ratones se trataron por vía i.p. con 20 mg/kg de S9.B-mIgG2a y 10 mg/kg de anticuerpo anti-PD-L1 2 veces por semana durante 3 semanas. Tal como se muestra en la **Fig. 29**, la combinación de Siglec-9-Fc con anticuerpo anti-PD-L1 disminuyó el crecimiento del tumor E0771 en mayor medida que el tratamiento con ya sea Siglec-9-Fc o anticuerpo anti-PD-L1 solo. El día 25 después de la implantación, se logró una inhibición del crecimiento
15 tumoral del 58% en comparación con la monoterapia con Siglec-9-Fc. Se muestra la media $\pm$ SEM. Estos estudios muestran que la combinación de Siglec-9-Fc con un inhibidor de PD-1 o PD-L1, tal como un anticuerpo anti-PD-1 o anti-PD-L1, puede mejorar la respuesta antitumoral.

Ejemplo 36: posibles marcadores farmacodinámicos de Siglec-9-Fc

20 [00245] Para dilucidar el mecanismo de acción e identificar posibles marcadores farmacodinámicos (PD) de respuesta, se realizó un estudio de monitoreo inmunológico. Los ratones se inocularon con células tumorales E0771, se aleatorizaron en 2 grupos a un volumen promedio de 100 mm³ y se dosificaron 3 veces con S9.B-mIgG2a (SEQ ID NO. 44, con la secuencia señal escindida durante la producción) o control de isotipo cada 3-4 días.
25 Veinticuatro horas después de la última dosis, se sacrificaron los ratones y se extrajeron el bazo y tumor para el análisis de citometría de flujo. CD11b es un regulador pleiotrópico de la función de las células mieloides, que incluye la regulación de la adhesión, la migración, la fagocitosis y la activación celular. S9.B-mIgG2 indujo un aumento significativo de la expresión de CD11b y CD86 en células mieloides esplénicas (**Fig. 30**). Estos cambios en
30 las células mieloides esplénicas son congruentes con los observados en las MDSC humanas y representan marcadores farmacodinámicos potenciales de Siglec-9-Fc.

Ejemplo 37: variantes de Siglec-9 adicionales dentro y fuera del dominio IgV

[00246] Se hicieron más variantes de Siglec-9-Fc que potencialmente mejorarían propiedades como la estabilidad y/o PK. Determinadas variantes que se hicieron se muestran en la **Fig. 31** y todas las variantes contempladas se incluyen en la Tabla de secuencias más adelante. En las variantes denominadas S9.32-S9.38, se sustituyó un único triptófano (W38) en un parche hidrofóbico no deseado en el dominio IgV por un residuo menos hidrofóbico. Las variantes denominadas S9.39 y S9.41-S9.45 contienen sustituciones adicionales en el dominio IgV para potencialmente reducir de manera adicional el efecto de parches hidrofóbicos no deseados. Las variantes denominadas S9.47-S9.53 contienen sustituciones fuera del dominio IgV para conferir potencialmente estabilidad. Se evaluaron algunas variantes para determinar ciertas propiedades, tal como se muestra en la **Fig.31**. Además, se evaluaron determinadas variantes en ensayos similares a los descritos en el Ejemplo 13 para examinar los efectos sobre los marcadores de repolarización en las MDSC. Tal como se muestra en la **Fig. 32**, las variantes S9.36, S9.37 y S9.38 se comportaron de manera similar a Siglec-9-Fc-hIgG1, al presentar una disminución de CD163 (**Fig. 32A**) y una disminución de CD206 (**Fig. 32B**) y un aumento de CD86 (**Fig. 32C**).

Ejemplo 38: variantes de Fc para mejorar la unión y la semivida de FcRn

[00247] Se realizaron más sustituciones y variaciones en la región Fc de Siglec-9-hIgG1 NSLF (SEQ ID NO:45) para mejorar potencialmente su semivida. Se predice que la región Fc de Siglec-9-hIgG1 NSLF está unida por el receptor de Fc neonatal (FcRn) en el entorno ácido del endosoma cuando las células in vivo absorben Siglec-9-hIgG1 NSLF. Como resultado de esta unión, Siglec-9-hIgG1 NSLF se dirigiría de regreso a la superficie celular y se liberaría al ambiente extracelular en condiciones de pH fisiológico, en lugar de degradarse dentro del endosoma ácido. Al “reciclar” Siglec-9-hIgG1 NSLF de vuelta al entorno extracelular después de la internalización, este proceso puede aumentar la cantidad de Siglec-9-hIgG1 NSLF en la circulación, lo que resulta en una semivida mejorada. Esto, a su vez, puede permitir dosis más bajas o dosis menos frecuentes.

[00248] Por consiguiente, se realizaron sustituciones y variaciones en la región Fc de un Siglec-9-hIgG1 NSLF (SEQ ID NO:45) para mejorar su unión a FcRn in vitro y, por lo tanto, mejorar potencialmente su capacidad para ser reciclado in vivo. Esas sustituciones y variaciones ilustrativas incluyen las sustituciones “YTE” y “LS”, y las inserciones de bucle que contienen cisteína, tal como se describe en Dall’Acqua et al. (2002) *J. Immunol.*

169:5171-5180; Zalevsky et al. (2010) *Nat. Biotechnol.* 28:157-159; y la patente estadounidense n.º 9,688,756, que se incorporan en la presente mediante esta referencia en su totalidad. Las secuencias de las construcciones modificadas resultantes se muestran en las SEQ ID NO: 228-230 (las sustituciones y variaciones se indican mediante residuos con subrayado doble en la tabla de secuencias más adelante). Las construcciones modificadas se evalúan para mejorar la unión a FcRn in vitro, por ejemplo, mediante resonancia de plasmones de superficie, y luego examinarse para determinar PK y PD mejoradas in vivo. También se contemplan construcciones modificadas que contienen la sustitución “YTE” o “LS”, o la inserción de bucle que contiene cisteína, pero no la sustitución NSLF, en el Fc. Esas construcciones se muestran en las SEQ ID NO: 231-233.

Ejemplo 39: Siglec-9-hlgG1 NSLF tiene una PK sérica mejorada en comparación con Siglec-9-hlgG1

[00249] Se compararon las propiedades farmacocinéticas de Siglec-9-hlgG1 NSLF (SEQ ID NO:45, con la secuencia señal escindida durante la producción) y Siglec-9-hlgG1 (SEQ IDNO:48, con la secuencia señal escindida durante la producción). Los monos Cynomolgus fueron tratados con una dosis única de inyecciones intravenosas de 80 mg/kg de Siglec-9-hlgG1 o Siglec-9-hlgG1 NSLF. Se determinaron los perfiles de tiempos de concentración medios para Siglec-9-hlgG1 y Siglec-9-hlgG1 NSLF en el suero de monos cynomolgus. La **Fig. 33** muestra que Siglec-9-hlgG1 NSLF (cuadrados) ha mejorado la PK sobre Siglec-9-hlgG1 (círculos).

Ejemplo 40: propiedades farmacocinéticas de variantes de Siglec-9-Fc

[00250] Se determinaron las propiedades farmacocinéticas de determinadas variantes de Siglec-9-Fc, como se describe en el Ejemplo 37. Se administraron S9.1, S9.36, S9.37, S9.38 y S9.45 como una sola administración mediante inyección intravenosa en bolo a ratones transgénicos Siglec 3/7/9 BAC. Tal como se muestra en la **Fig. 34**, S9.37 mostró un aumento de C_{max} y AUC_{0-inf} . Aunque la $T_{1/2}$ media es similar a las otras variantes, el aumento en la AUC en particular puede indicar una mejor exposición (biodisponibilidad) de S9.37 en comparación con otras variantes.

Tabla de determinadas secuencias

[00251] En la tabla siguiente, los residuos en negrita y subrayados en determinadas SEQ ID NO muestran variantes de secuencias del ECD de Siglec-9 que representan residuos que difieren de la secuencia natural del ECD de Siglec-9. Los residuos con subrayado doble

en las SEQ ID NO: 228-233 muestran residuos del dominio Fc variantes. En algunos casos, los números de residuos utilizados en el nombre de una variante de Siglec-9 en particular en la columna “Descripción” (por ejemplo, S35X) pueden no coincidir con la numeración de los residuos en la SEQ ID NO de la columna “Secuencia” (por ejemplo, debido a la ausencia o presencia de una secuencia señal), como puede verse al comparar el residuo mutado en **negrita y subrayado** con su posición dentro de la SEQ ID NO a continuación.

SEQ ID NO	Descripción	Secuencia
1	Siglec-9 humana (con secuencia señal)	MLLLLLPLLW GRERAEGQTS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTFVQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVSLSQSK ATSGVTQGVV GGAGATALVF LSFCVIFVVV RSCRKKSARP AAGVGDTGIE DANA VRGSAS QGPLTEPWAE DSPPDQPPPA SARSSVGEGE LQYASLSFQM VKPWDSRGQE ATDTEYSEIK IHR
2	Siglec-9 humana madura	SKLLTMQSSV TVQEGLCVHV PCSFSYPSHG WIYPGPVVHG YWFREGANTD QDAPVATNNP ARAVWEETRD RFHLLGDPHT KNCTLSIRDA RRSDAGRYFF RMEKGSIKWN YKHHRLSVNV TALTHRPNIL IPGTLESGCP QNLTCVSPA CEQGTPPMIS WIGTSVSPLD PSTTRSSVLT LIPQPQDHGT SLTCQVTFPG ASVTTNKTVH LNVSYPPQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSS

		LSLPEGQSLR LVCAVDAVDS NPPARLSLSW RGLTLCPSQP SNPGVLELPW VHLRDAAEFT CRAQNPLGSQ QVYLVNLSLQS KATSGVTQGV VGGAGATALV FLSFCVIFVV VRSCRKKSAR PAAGVGDTGI EDANAVRGSA SQGPLTEPWA EDSPPDQPPP ASARSSVGEG ELQYASLSFQ MVKPWDSRGQ EATDTEYSEI KHR
3	enlazador	ALTHR
4	enlazador	LNVSYP
5	Motivo ITIM	LQYASL
6	Motivo similar a SLAM	TEYSEI
7	Dominio IgV de Siglec-9 humana	SKLLTMQSSV TVQEGLCVHV PCSFSYPSHG WIYPGPVVHG YWFREGANTD QDAPVATNNP ARAVWEETRD RFHLLGDPHT KNCTLSIRDA RRSDAGRYFF RMEKGSIKWN YKHHRLSVNV T
8	Bucle Siglec-7	VDSQTDSD
9	Bucle Siglec-9	SHGWIYPG
10	Siglec-9-Fc original (WIYP); S9.1-hIgG1 (sin secuencia señal)	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRD R FHLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLT IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTFVQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT

		KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
11	Siglec-9-Fc DIEG; S9.2-hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG <u>D</u> <u>IEG</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
12	Siglec-9-Fc SIET; S9.3-hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG <u>S</u> <u>IET</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL

		NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
13	Siglec-9-Fc SIEP; S9.4-hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG<u>S</u> <u>I</u>E~~E~~PGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
14	Siglec-9-Fc DIEP;	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG<u>D</u>

	S9.5-hIgG1	<u>I</u>EPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL TKNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
15	Siglec-9-Fc YQES; S9.6-hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG<u>Y</u> <u>QES</u>GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY

		KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
16	Siglec-9-Fc THET; S9.7-hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGT <u>HET</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
17	Siglec-9-Fc L23T H26S H80Y L82E; S9.8-hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEG <u>TCV</u> <u>S</u> VP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR <u>F</u> <u>Y</u> <u>L</u> <u>E</u> GDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL

		SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL TKNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
18	Siglec-9-Fc L23T H26T H80Y L82D; S9.9-hlgG1	S KLLTMQSSVT VQEG <u>I</u> CV <u>T</u> VP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR F <u>Y</u> L <u>D</u> GDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLT IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL TKNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
19	Siglec-9-Fc S35D W38T; S9.10-hlgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>D</u> HG <u>I</u> IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA

		RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
20	Siglec-9-Fc S35D W38E; S9.11-hlgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>DHGE</u> IYPGPVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY

		TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
21	Siglec-9-Fc W38S I39H Y40H; S9.12- hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG <u>S</u> <u>HH</u> PGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNL MTVFQGDGTV STVLGNSSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
22	Siglec-9-Fc S35D W38Q I39H Y40E; S9.13-hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPP <u>DHGO</u> <u>HE</u> PGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNL MTVFQGDGTV STVLGNSSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR

		GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL TKNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
23	Siglec-9-Fc S35T W38Q I39H Y40E; S9.14-hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPT <u>HGS</u> <u>HE</u> PGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLT IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL TKNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
24	Siglec-9-Fc S35D W38E I39T; S9.15- hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPT <u>DHGE</u> <u>I</u> YPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR

		RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
25	Siglec-9-Fc S35N W38E I39T; S9.16- hlgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>NHGT</u> <u>E</u> YPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV

		EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
26	Siglec-9-Fc S35H W38T I39T Y40T; S9.17-hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>H</u> HGT <u>I</u> <u>I</u> TPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
27	Siglec-9-Fc S35H W38S I39T Y40T; S9.18-hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>H</u> HGS <u>S</u> <u>I</u> TPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC

		RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
28	Siglec-9-Fc W38G I39T Y40E; S9.19- hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGG <u>TE</u> PGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLT IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
29	Siglec-9-Fc S8D K9Y L10T W116E; S9.20-hIgG1	<u>D Y</u> TLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIK <u>E</u> NY KHHRLSVNVT

		ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLT IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
30	Siglec-9-Fc S8D K9Y L10Q W116N; S9.21-hIgG1	<u>D YQL</u> TMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG W IYGPVVGHY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIK <u>NNY</u> KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLT IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK

		LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
31	Siglec-9-Fc S8E K9Y L10T W116E; S9.22-hlgG1	E YLTLMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIK E NY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTTPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
32	Siglec-9-Fc WIYP a QTDS; S9.23-hlgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSH Q TDS GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTTPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC

		PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
33	Siglec-9-Fc GWIYP a SQTDS; S9.24- hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSH <u>SQ</u> <u>TDS</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLT IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
34	Siglec-9-Fc SHGWIYPG a VDSQTDSD; S9.25- hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>VDSQ</u> <u>TDS</u> DPVVHG YWFREGANTD QDAPVATNNP ARAVWEETRD RFHLLGDPHT KNCTLSIRDA RRSDAGRYFF RMEKGSIKWN YKHHRLSVNV TALTHRPNIL IPGTLESGCP QNLTCSPWA

		CEQGTPPMIS WIGTSVSPLD PSTTRSSVLT LIPQPQDHGT SLTCQVTFPG ASVTTNKT VH LNVSYPPQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSS LSLPEGQSLR LVCAVDAVDS NPPARLSLSW RGLTLCPSQP SNPGVLELPW VHLRDAAEFT CRAQNPLGSQ QVYLVNVEPK SCDKTHTCPP CPAPELLGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK
35	Siglec-9-Fc SHGWIYPG a VHGQIDSD; S9.26- hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>VHGQ</u> <u>IDSD</u> PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLT IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKT VH LNVSYPPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL TKNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK

		SLSLSPGK
36	Siglec-9-Fc SHGWIYPG a VHSQIDSD; S9.27- hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>VHSQ</u> <u>IDSD</u> PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
37	Siglec-9-Fc SHGWIYPG a VDSQIDSD; S9.28- hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>VDSQ</u> <u>IDSD</u> PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV

		TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
38	Siglec-9-Fc SHGWIYPG a SDSQIDSD; S9.29- hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>SDSQ</u> <u>IDSD</u> PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLT IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
39	Siglec-9-Fc SHGWIYPG a VDGQIDSD; S9.30- hIgG1	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>VDGQ</u> <u>IDSD</u> PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLT

		IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
40	S9.A-hIgG1 (la secuencia señal es los aminoácidos 1-19; la secuencia madura es los aminoácidos 20-586)	MLLLLLPLLW GRERAEGQTS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSLQSK ATSGVTQGDI EGRMDPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNAKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNQQPENNY KTTTPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA

		LHNHYTQKSL SLSPGK
41	S9.A-hIgG1 NSLF (la secuencia señal es los aminoácidos 1-19; la secuencia madura es los aminoácidos 20-586)	MLLLLLPLLW GRERAEGQTS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVSLSQSK ATSGVTQGDI EGRMDPKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSSKAFPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTTPVLDS GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
42	S9.A-hIgG1 LALAPS (la secuencia señal es los aminoácidos 1-19; la secuencia madura es los aminoácidos 20-586)	MLLLLLPLLW GRERAEGQTS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ

		VYLVNSLQSK ATSGVTQGDI EGRMDPKSCD KTHTCPPCPA PEAAGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNAKALPAS IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTTPVLDS GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
43	S9.A-mIgG1 (la secuencia señal es los aminoácidos 1-19; la secuencia madura es los aminoácidos 20-576)	MLLLLLPLLW GRERAEGQTS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSLQSK ATSGVTQGDI EGRMDCKPCI CTVPEVSSVF IFPPKPKDVL TITLTPKVTC VVVDISKDDP EVQFSWFVDD VEVHTAQTQP REEQFNSTFR SVSELPIMHQ DWLNGKEFKC RVNSAAFPAP IEKTISKTKG RPKAPQVYTI PPPKEQMAKD KVSLTCMITD FFPEDITVEW QWNGQPAENY KNTQPIMNTN GSYFVYSKLN VQKSNWEAGN TFTCSVLHEG LHNHHTEKSL SHSPGK
44	S9.B-mIgG2a (la secuencia señal es los aminoácidos 1-	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR

	19; la secuencia madura es los aminoácidos 20-587)	FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVSLSQSK ATSGVTQGGG GGSIEPRGPT IKPCPPCKCP APNLLGGPSV FIFPPKIKDV LMISLSPIVT CVVVDVSEDD PDVQISWVFN NVEVHTAQTTQ THREDYNSTL RVVSALPIQH QDWMSGKEFK CKVNNKDLPA PIERTISKPK GSVRAPQVYV LPPPEEEMTK KQVTLTCMVT DFMPEDIYVE WTNNGKTELN YKNTEPVLDS DGSYFMYSKL RVEKKNWVER NSYSCSVVHE GLHNHHTTKS FSRTPGK
45	S9.1-hlgG1 NSLF	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSSKAFP

		APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
46	S9.1-hIgG4 S228P	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNLSLQSK ATSGVTQGES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK
47	S9.1-hIgG1 K322A	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT

		MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCAVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
48	Secuencia señal (SS)-Siglec-9-Fc original (WIYP); SS- S9.1-hIgG1	MGWSCILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
49	SS-Siglec-9-Fc DIEG; SS-S9.2-	MGWSCILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGD D IEG GPVVHGY

	hIgG1	WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
50	SS-Siglec-9-Fc SIET; SS-S9.3- hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGS SIETGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP

		APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
51	SS-Siglec-9-Fc SIEP; SS-S9.4- hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGS <u>S</u> <u>I</u> EPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
52	SS-Siglec-9-Fc DIEP; SS-S9.5- hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGD <u>D</u> <u>I</u> EPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL

		VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQOPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
53	SS-Siglec-9-Fc YQES; SS-S9.6- hlgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGY <u>YQES</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQOPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
54	SS-Siglec-9-Fc THET; SS-S9.7- hlgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGT <u>T HET</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR

		FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTFVQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
55	SS-Siglec-9-Fc L23T H26S H80Y L82E; SS-S9.8- hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEG <u>I</u> CV <u>S</u> VP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR F <u>Y</u> L <u>E</u> GDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTFVQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT

		KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
56	SS-Siglec-9-Fc L23T H26T H80Y L82D; SS-S9.9- hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEG <u>I</u> CV <u>I</u> VP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR <u>F</u> <u>Y</u> <u>L</u> <u>D</u> GDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
57	SS-Siglec-9-Fc S35D W38T; SS- S9.10-hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>D</u> HG <u>I</u> IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS

		NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
58	SS-Siglec-9-Fc S35D W38E; SS- S9.11-hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>DHGE</u> IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
59	SS-Siglec-9-Fc W38S I39H Y40H; SS-S9.12-hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGS <u>S HHP</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR

		MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSVPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
60	SS-Siglec-9-Fc S35D W38Q I39H Y40E; SS-S9.13- hlgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP<u>DHGO</u><u>HE</u>PGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSVPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN

		NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
61	SS-Siglec-9-Fc S35T W38Q I39H Y40E; SS-S9.14- hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>THGS</u> <u>HE</u> PGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQOPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
62	SS-Siglec-9-Fc S35D W38E I39T; SS-S9.15-hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>DHGE</u> <u>T</u> YPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ

		VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
63	SS-Siglec-9-Fc S35N W38E I39T; SS-S9.16-hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>NHGT</u> <u>E</u> YPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKT VHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
64	SS-Siglec-9-Fc S35H W38T I39T Y40T; SS-S9.17- hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>HHGT</u> <u>TT</u> PGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI

		PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
65	SS-Siglec-9-Fc S35H W38S I39T Y40T; SS-S9.18- hIgG1	MGWSCIIFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>H</u> <u>H</u> <u>G</u> <u>S</u> <u>T</u> <u>T</u> PGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ

		GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
66	SS-Siglec-9-Fc W38G I39T Y40E; SS-S9.19-hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGG <u>TE</u> PGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
67	SS-Siglec-9-Fc S8D K9Y L10T W116E; SS-S9.20-hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSD <u>Y</u> TLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIK <u>E</u> NY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS

		VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
68	SS-Siglec-9-Fc S8D K9Y L10Q W116N; SS-S9.21-hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSD <u>Y</u> QLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIK <u>N</u> NY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
69	SS-Siglec-9-Fc S8E K9Y L10T W116E; SS-S9.22-hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSE <u>Y</u> TLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIK <u>E</u> NY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW

		IGTSVSP LDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKT VHL NVSYPPQNLT MTFVQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
70	SS-Siglec-9-Fc WIYP a QTDS; SS- S9.23-hlgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG <u>Q TDS</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSP LDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKT VHL NVSYPPQNLT MTFVQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK

71	SS-Siglec-9-Fc GWIYP a SQTDS; SS-S9.24-hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSH <u>SQ TDS</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQOPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
72	SS-Siglec-9-Fc SHGWIYPG a VDSQTDSD; SS- S9.25-hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>VDSQ TDSD</u> DPVVHG YWFREGANTD QDAPVATNNP ARAVWEETRD RFHLLGDPHT KNCTLSIRDA RRSDAGRYFF RMEKGSIKWN YKHHRLSVNV TALTHRPNIL IPGTLESGCP QNLTCVSPWA CEQGTPPMIS WIGTSVSPLD PSTTRSSVLT LIPQPQDHGT SLTCQVTFPG ASVTTNKT VH LNVSYPPQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSS LSLPEGQSLR LVCAVDAVDS NPPARLSLSW RGLTLCPSQP SNPGVLELPW VHLRDAAEFT CRAQNPLGSQ QVYLVNSEPK SCDKTHTCPP CPAPELLGGP SVFLFPPKPK DTLMISRTPE VTCVVVDVSH

		EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV YTLPPSRDEL TKNQVSLTCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTTPVL DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK
73	SS-Siglec-9-Fc SHGWIYPG a VHGQIDSD; SS- S9.26-hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>VHGQ</u> <u>IDSD</u> PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
74	SS-Siglec-9-Fc SHGWIYPG a VHSQIDSD; SS- S9.27-hIgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>VHSQ</u> <u>IDSD</u> PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS

		LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
75	SS-Siglec-9-Fc SHGWIYPG a VDSQIDSD; SS- S9.28-hlgG1	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP<u>VDSQ</u> <u>IDSD</u>PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
76	SS-Siglec-9-Fc	MGWSCIILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT

	SHGWIYPG a SDSQIDSD; SS- S9.29-hIgG1	VQEGLCVHVP CSFSYP <u>SDSQ</u> <u>IDSD</u> PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKT VHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
77	SS-Siglec-9-Fc SHGWIYPG a VDGQIDSD; SS- S9.30-hIgG1	MGWSCILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>VDGQ</u> <u>IDSD</u> PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKT VHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNSEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST

		YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDEL KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
78	Siglec-9 original (WIYP); S9.1 (sin secuencia señal)	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLT IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
79	Siglec-9 DIEG; S9.2	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGD <u>IEG</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLT IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
80	Siglec-9 SIET; S9.3	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG <u>S</u> <u>IE</u> TGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT

		ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLT IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
81	Siglec-9 SIEP; S9.4	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGS <u>S</u> <u>I</u> EPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLT IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
82	Siglec-9 DIEP; S9.5	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGD <u>D</u> <u>I</u> EPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLT IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
83	Siglec-9 YQES; S9.6	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGY <u>Y</u> <u>QES</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA

		RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
84	Siglec-9 THET; S9.7	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG <u>T</u> <u>HET</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
85	Siglec-9 L23T H26S H80Y L82E; S9.8	S KLLTMQSSVT VQEG <u>T</u> CV <u>S</u> VP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR F <u>Y</u> L <u>E</u> GDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS

86	Siglec-9 L23T H26T H80Y L82D; S9.9	S KLLTMQSSVT VQEG <u>I</u> CV <u>T</u> VP CSFSYPSHW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR F <u>Y</u> L <u>D</u> GDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
87	Siglec-9 S35D W38T; S9.10	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>D</u> HG <u>T</u> IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
88	Siglec-9 S35D W38E; S9.11	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>D</u> HG <u>E</u> IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC

		RAQNPLGSQQ VYLNVS
89	Siglec-9 W38S I39H Y40H; S9.12	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG<u>S</u> <u>HH</u>PGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
90	Siglec-9 S35D W38Q I39H Y40E; S9.13	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP<u>DH</u>GQ <u>HE</u>PGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
91	Siglec-9 S35T W38Q I39H Y40E; S9.14	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP<u>TH</u>G<u>S</u> <u>HE</u>PGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL

		SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
92	Siglec-9 S35D W38E I39T; S9.15	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>DHGE</u> <u>I</u> YPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
93	Siglec-9 S35N W38E I39T; S9.16	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>NHGT</u> <u>E</u> YPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
94	Siglec-9 S35H W38T I39T Y40T; S9.17	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>HHGT</u> <u>I</u> TPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL

		IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
95	Siglec-9 S35H W38S I39T Y40T; S9.18	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>HHGS</u> <u>IT</u> PGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
96	Siglec-9 W38G I39T Y40E; S9.19	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>SHGG</u> <u>TE</u> PGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
97	Siglec-9 S8D K9Y L10T W116E; S9.20	<u>D Y</u> TLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>SHGW</u> IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIK <u>E</u> NY KHHRLSVNVT

		ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLT IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNL MTVFQGDGT STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
98	Siglec-9 S8D K9Y L10Q W116N; S9.21	<u>D</u> <u>YQL</u> TMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIK <u>N</u> NY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLT IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNL MTVFQGDGT STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
99	Siglec-9 S8E K9Y L10T W116E; S9.22	<u>E</u> <u>YT</u> TMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIK <u>E</u> NY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLT IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNL MTVFQGDGT STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
100	Siglec-9 WIYP a QTDS; S9.23	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG <u>Q</u> <u>TDS</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA

		RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTTPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
101	Siglec-9 GWIYP a SQTDS; S9.24	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSH <u>SQ</u> <u>TDS</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTTPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
102	Siglec-9 SHGWIYPG a VDSQTDSD; S9.25	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>VDSQ</u> <u>TDS</u> DPVVHG YWFREGANTD QDAPVATNNP ARAVWEETRD RFHLLGDPHT KNCTLSIRDA RRSDAGRYFF RMEKGSIKWN YKHHRLSVNV TALTHRPNIL IPGTLESGCP QNLTCSPWA CEQGTTPMIS WIGTSVSPLD PSTTRSSVLT LIPQPQDHGT SLTCQVTFPG ASVTTNKT VH LNVSYPQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSS LSLPEGQSLR LVCAVDAVDS NPPARLSLSW RGLTLCPSQP SNPGVLELPW VH LRDAAEFT CRAQNPLGSQ QVYLNVS

103	Siglec-9 SHGWIYPG a VHGQIDSD; S9.26	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>VHGQ</u> <u>IDSD</u> PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
104	Siglec-9 SHGWIYPG a VHSQIDSD; S9.27	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>VHSQ</u> <u>IDSD</u> PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
105	Siglec-9 SHGWIYPG a VDSQIDSD; S9.28	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>VDSQ</u> <u>IDSD</u> PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC

		RAQNPLGSQQ VYLNVS
106	Siglec-9 SHGWIYPG a SDSQIDSD; S9.29	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>SDSQ</u> <u>IDSD</u> PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
107	Siglec-9 SHGWIYPG a VDGQIDSD; S9.30	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>VDGQ</u> <u>IDSD</u> PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNL MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVS
108	Dominio IgV de Siglec-9 original (WIYP); S9.1-IgV (sin secuencia señal)	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP SHGW IYGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
109	Dominio IgV de Siglec-9 DIEG; S9.2-IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP SHG <u>D</u> <u>IEG</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR

		RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
110	Dominio IgV de Siglec-9 SIET; S9.3-IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG <u>S</u> <u>IET</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
111	Dominio IgV de Siglec-9 SIEP; S9.4-IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG <u>S</u> <u>IEP</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
112	Dominio IgV de Siglec-9 DIEP; S9.5-IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG <u>D</u> <u>IEP</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
113	Dominio IgV de Siglec-9 YQES; S9.6-IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG <u>Y</u> <u>QES</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
114	Dominio IgV de Siglec-9 THET; S9.7-IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG <u>T</u> <u>HET</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
115	Dominio IgV de Siglec-9 L23T H26S H80Y L82E; S9.8- IgV	S KLLTMQSSVT VQEG <u>T</u> CV <u>S</u> VP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR F <u>Y</u> L <u>E</u> GDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
116	Dominio IgV de Siglec-9 L23T H26T H80Y L82D; S9.9- IgV	S KLLTMQSSVT VQEG <u>T</u> CV <u>T</u> VP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR F <u>Y</u> L <u>D</u> GDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
117	Dominio IgV de	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>D</u> HG <u>T</u>

	Siglec-9 S35D W38T; S9.10-IgV	IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
118	Dominio IgV de Siglec-9 S35D W38E; S9.11-IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>DHGE</u> IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
119	Dominio IgV de Siglec-9 W38S I39H Y40H; S9.12-IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG <u>S</u> <u>HHP</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
120	Dominio IgV de Siglec-9 S35D W38Q I39H Y40E; S9.13-IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>DHGQ</u> <u>HEP</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
121	Dominio IgV de Siglec-9 S35T W38Q I39H Y40E; S9.14-IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPT <u>HGS</u> <u>HEP</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
122	Dominio IgV de Siglec-9 S35D W38E I39T; S9.15- IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>DHGE</u> <u>I</u> YPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
123	Dominio IgV de Siglec-9 S35N W38E I39T; S9.16- IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>NHGT</u> <u>E</u> YPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT

124	Dominio IgV de Siglec-9 S35H W38T I39T Y40T; S9.17-IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>H</u> HGT <u>IT</u> PGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
125	Dominio IgV de Siglec-9 S35H W38S I39T Y40T; S9.18-IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>H</u> HGS <u>IT</u> PGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
126	Dominio IgV de Siglec-9 W38G I39T Y40E; S9.19-IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG <u>G</u> <u>TE</u> PGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
127	Dominio IgV de Siglec-9 S8D K9Y L10T W116E; S9.20-IgV	<u>D Y</u> TLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIK <u>E</u> NY KHHRLSVNVT
128	Dominio IgV de Siglec-9 S8D K9Y L10Q W116N; S9.21-IgV	<u>D YQ</u> LTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIK <u>N</u> NY KHHRLSVNVT
129	Dominio IgV de Siglec-9 S8E K9Y L10T W116E; S9.22-IgV	<u>E Y</u> TLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIK <u>E</u> NY KHHRLSVNVT
130	Dominio IgV de Siglec-9 WIYP a	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHG <u>Q</u> <u>TD</u> SGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA

	QTDS; S9.23-IgV	RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
131	Dominio IgV de Siglec-9 GWIYP a SQTDS; S9.24-IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSH <u>SQ</u> <u>TDS</u> GPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
132	Dominio IgV de Siglec-9 SHGWIYPG a VDSQTDSD; S9.25- IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>VDSQ</u> <u>TDS</u> D PVVHG YWFREGANTD QDAPVATNNP ARAVWEETRD RFHLLGDPHT KNCTLSIRDA RRSDAGRYFF RMEKGSIKWN YKHHRLSVNV T
133	Dominio IgV de Siglec-9 SHGWIYPG a VHGQIDSD; S9.26- IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>VHGQ</u> <u>IDSD</u> PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
134	Dominio IgV de Siglec-9 SHGWIYPG a VHSQIDSD; S9.27- IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>VHSQ</u> <u>IDSD</u> PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
135	Dominio IgV de Siglec-9 SHGWIYPG a VDSQIDSD; S9.28- IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>VDSQ</u> <u>IDSD</u> PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
136	Dominio IgV de Siglec-9	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>SDSQ</u> <u>IDSD</u> PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA

	SHGWIYPG a SDSQIDSD; S9.29- IgV	RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
137	Dominio IgV de Siglec-9 SHGWIYPG a VDGQIDSD; S9.30- IgV	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYP <u>VDGQ</u> <u>IDSD</u> PVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT
138	SSopt-S9.A ECD (con la secuencia señal optimizada)	MGWSCILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPDLP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVSLSQSK ATSGVTQG
139	SSopt-S9.A ECD- hIgG1 (con la secuencia señal optimizada de aa 1- 19 y secuencia enlazadora (encuadrada) entre ECD y dominio Fc de hIgG1)	MGWSCILFL VATATGVHSS KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCVSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPDLP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPPQNLT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR GLTLCPSQPS

		NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLNVSLSQSK ATSGVTQG <u>DI</u> <u>EGRMD</u> PKSCD KTHTCPPCPA PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNAKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTTPVLDS GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
140	Secuencia señal natural	MLLLLLPLLW GRERAEGQT
141	Secuencia señal optimizada	MGWSCILFL VATATGVHS
142	IgG1 de tipo salvaje	EPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVL SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
143	IgG1 NSLF (sustituciones de N a S y L a F subrayadas)	EPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKV <u>S</u> <u>S</u> KA <u>F</u> APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVL SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
144	IgG1 K322A	EPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD

		TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCAVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
145	IgG4	ES KYGPPCPSCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK
146	IgG4 S228P	ES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSLGK
147	Región proximal de la membrana del ECD de Siglec-9	LQSKATSGVTQG
148	S9.32 - W38T - hIgG1	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFSPSHG<u>T</u>IYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCVWPWACEQGTTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR

		SSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
149	S9.33 - W38E - hIgG1	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHGEIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCSVPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR SSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
150	S9.34 - W38S - hIgG1	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHGSIIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCSVPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR

		SSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
151	S9.35 - W38A - hIgG1	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHG <u>A</u> IYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCSVPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR SSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
152	S9.36 - W38R - hIgG1	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHG <u>R</u> IYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCSVPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR

		SSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
153	S9.37 - W38Q - hIgG1	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHG Q IYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCSVPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR SSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
154	S9.38 - W38K - hIgG1	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHG K IYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCSVPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR

		SSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
155	S9.39 - W38S_Y40T - hIgG1	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHGSITPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCSVPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR SSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
156	S9.41 - L_ER_R - hIgG1	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHGERYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIK ~~R~~ NYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCSVPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR

		SSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
157	S9.42 - D_SI_R - hIgG1	SK <u>D</u> LTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHG <u>S</u> IYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIK <u>R</u> NYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTC SVPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR SSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
158	S9.43 - L_KI_R - hIgG1	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHG <u>K</u> IYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIK <u>R</u> NYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTC SVPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR

		SSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYPQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWVHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
159	S9.44 - T_EI_E - hIgG1	SK <u>T</u> LTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHG <u>E</u> IYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIK <u>E</u> NYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCPQ NLTCSPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTRS SVLTLIPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHLN VSYPQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEGQ SLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPSN PGVLELPWVHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLVN SEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
160	S9.45 - S_QI_R - hIgG1	SK <u>S</u> LTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHG <u>Q</u> IYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIK <u>R</u> NYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCSPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR

		SSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
161	S9.47 - R_SS_I_T - hIgG1	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHGWIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLES <u>R</u> CP QNLTCSVPWACEQGTPPMISWIGTS <u>S</u> SPLDPSTTR SSVLTLP <u>I</u> PQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
162	S9.48 - R_DS_I_T - hIgG1	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHGWIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLES <u>R</u> CP QNLTCSVPWACEQGTPPMISWIGTS <u>D</u> SPLDPSTTR

		SSVLTLP <u>I</u> PQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKTVHL NVSYPQNLMTVFQGDGTSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
163	S9.49 - G_VT_Q_T - hIgG1	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFSPSHGWIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCVWPWACEQGTPPMISWIGTSV <u>I</u> PLDPSTTR SSVLTLP <u>Q</u> <u>I</u> PQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKTVH LNVSYPQNLMTVFQGDGTSTVLGNGSSLSLPE GQSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQP SNPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYL NVSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK KDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
164	S9.50 - N_TT_I_Q - hIgG1	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFSPSHGWIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLES <u>N</u> CP QNLTCVWPWACEQGTPPMISWIGTS <u>IT</u> PLDPSTTR

		SSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
165	S9.51 - G_VK_I_E - hIgG1	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHGWIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCSVPWACEQGTPPMISWIGTSV <u>K</u> PLDPSTTR SSVLTLP <u>E</u> PQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
166	S9.52 - R_SS_Q_T - hIgG1	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHGWIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLES <u>R</u> CP QNLTCSVPWACEQGTPPMISWIGTS <u>SS</u> PLDPSTTR

		SSVLT <u>LQPT</u> PQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKTVH LNVSYPQNLMTVFQGDGTSTVLGNGSSLSLPE GQSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQP SNPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYL NVSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
167	S9.53 - G_SK_Q_E - hIgG1	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFSPSHGWIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCVWPWACEQGTTPMISWIGTS <u>SK</u> PLDPSTTR SSVLT <u>LQPE</u> PQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKTVH LNVSYPQNLMTVFQGDGTSTVLGNGSSLSLPE GQSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQP SNPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYL NVSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLTP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
168	S9.36 - W38R - hIgG1 NSLF	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFSPSHGRIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCVWPWACEQGTTPMISWIGTSVSPLDPSTTR

		SSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSSKAFPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
169	S9.37 - W38Q - hIgG1 NSLF	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHGQIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCSVPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR SSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSSKAFPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
170	S9.38 - W38K - hIgG1 NSLF	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHGKIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCSVPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR

		SSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSSKAFPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
171	S9.32 (SS) - W38T - hIgG1	MGWSC IILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVT VQEGLC VHVPCSFSYPSHGTIYPGPV VHG YWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNL TCSVPWACEQGTTP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLPQPQDHGTS LT CQVTFPGASVTTNKT VHLNVSYP PQNL TMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWWHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLN VSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS L SLSPGK
172	S9.33 (SS) - W38E - hIgG1	MGWSC IILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVT VQEGLC VHVPCSFSYPSHGEIYPGPV VHG YWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT

		ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCSVPWACEQGTPP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLTMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
173	S9.34 (SS) - W38S - hIgG1	MGWSCIILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSYPSHSGSIYPGPVVHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCSVPWACEQGTPP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLTMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
174	S9.35 (SS) - W38A - hIgG1	MGWSCIILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSYPSHGAIIYPGPVVHGYWFREGANTDQ

		DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCSVPWACEQGTPP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLTMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWWHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
175	S9.36 (SS) - W38R - hIgG1	MGWSCIIFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSYPSHGRIPGPVVHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCSVPWACEQGTPP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLTMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWWHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK

176	S9.37 (SS) - W38Q - hIgG1	MGWSCIILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSPSHGQIYPGPVVHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCSVPWACEQGTPP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLTMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWWHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
177	S9.38 (SS) - W38K - hIgG1	MGWSCIILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSPSHGKIYPGPVVHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCSVPWACEQGTPP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLTMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWWHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY

		SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
178	S9.39 (SS) - W38S_Y40T - hlgG1	MGWSCIILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSYPSHGSITPGPVVHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCSVPWACEQGTPP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLTMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
179	S9.41 (SS) - L_ER_R - hlgG1	MGWSCIILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSYPSHGERYPGPVVHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKRNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCSVPWACEQGTPP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLTMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS

		KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
180	S9.42 (SS) - D_SI_R - hlgG1	MGWSCIIFLVATATGVHSSKDLTMQSSVTVQEG CVHVPCSFSYPSHGSYIPGPVVHGYWFREGANTD QDAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCT LSIRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKRNYKHHRLSVN VTALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCVSPWACEQGT PPMISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLMTVFQ GDGTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSN PPARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWWHLRDA AEFTCRAQNPLGSQQVYLVNVEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK
181	S9.43 (SS) - L_KI_R - hlgG1	MGWSCIIFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSYPSHGGKIYPGPVVHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKRNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCVSPWACEQGTTP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWWHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVNVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS

		HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
182	S9.44 (SS) - T_EI_E - hlgG1	MGWSCIILFLVATATGVHSSKLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSPSHGEIYPGPVHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKENYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCSVPWACEQGTPP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLTMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
183	S9.45 (SS) - S_QI_R - hlgG1	MGWSCIILFLVATATGVHSSKSLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSPSHGQIYPGPVHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKRNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCSVPWACEQGTPP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLTMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAE

		FTCRAQNPLGSQQVYLVSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
184	S9.47 (SS) - R_SS_I_T - hlgG1	MGWSCIILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSSYP SHGWIYPGPV VHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESRC PQNL TCSVPWACEQGTPP MISWIGTSSSPLDPSTTRSSVLTLIPTPDHGTSLTC QVTFPGASVTTNKT VHLNVSYP PQNL TMTVFQGDG TVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPPA RLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAEF TCRAQNPLGSQQVYLVSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
185	S9.48 (SS) - R_DS_I_T - hlgG1	MGWSCIILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSSYP SHGWIYPGPV VHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESRC PQNL TCSVPWACEQGTPP MISWIGTSDSPLDPSTTRSSVLTLIPTPDHGTSLTC QVTFPGASVTTNKT VHLNVSYP PQNL TMTVFQGDG

		TVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPPA RLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAEF TCRAQNPLGSQQVYLVNVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
186	S9.49 (SS) - G_VT_Q_T - hlgG1	MGWSCIIILFVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSPSHGWIYPGPVVHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCSVPWACEQGTPP MISWIGTSVTPLDPSTTRSSVLTLQPTPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLTMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVNVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
187	S9.50 (SS) - N_TT_I_Q - hlgG1	MGWSCIIILFVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSPSHGWIYPGPVVHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESNCPQNLTCSVPWACEQGTPP

		MISWIGTSTTPLDPSTTRSSVLTLIPQPQDHGTS LTC QVTFPGASVTTNKT VHLNVSYP PQNL TMTVFQGDG TVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPPA RLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWWHLRDAAEF TCRAQNPLGSQQVYLVN VSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
188	S9.51 (SS) - G_VK_I_E - hlgG1	MGWSCII FLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSF SYPSHGW IYPGPV VHG YWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNL TCSVPWACEQGTPP MISWIGTSVKPLDPSTTRSSVLTLIPEPQDHGTS LTC QVTFPGASVTTNKT VHLNVSYP PQNL TMTVFQGDG TVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPPA RLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWWHLRDAAEF TCRAQNPLGSQQVYLVN VSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
189	S9.52 (SS) - R_SS_Q_T - hlgG1	MGWSCII FLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSF SYPSHGW IYPGPV VHG YWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS

		IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESRCPQNLTCSVPWACEQGTPP MISWIGTSSSPLDPSTTRSSVLTLQPTPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLTMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVNSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
190	S9.53 (SS) - G_SK_Q_E - hlgG1	MGWSCIILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSSYP SHGWIYPGPV VHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESRCPQNLTCSVPWACEQGTPP MISWIGTSSKPLDPSTTRSSVLTLQPEPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLTMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVNSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
191	S9.36 (SS) - W38R	MGWSCIILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC

	- hIgG1 NSLF	VHVPCSFSYPSHGRIPGPVVHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCVWPWACEQGTPP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
192	S9.37 (SS) - W38Q - hIgG1 NSLF	MGWSCILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFYPSHGRIPGPVVHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCVWPWACEQGTPP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL

		SLSPGK
193	S9.38 (SS) - W38K - hlgG1 NSLF	MGWSCILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSYPSHGGKIYPGPVVHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCSVPWACEQGTTP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPQNLMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVNSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFPAIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
194	S9.32 (EC) - W38T	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGTIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCSVPWACEQGTTPMISWIGTSVSPLDPSTTR SSVLTLPQPQDHGTSLTQVTFPGASVTTNKTVHL NVSYPQNLMTVFQGDGTVSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWVHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLV VS
195	S9.33 (EC) - W38E	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGEIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK

		GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCVWPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR SSVLTLIPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYPPQNLMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VS
196	S9.34 (EC) - W38S	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHGS IYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCVWPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR SSVLTLIPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYPPQNLMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VS
197	S9.35 (EC) - W38A	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHGA IYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCVWPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR SSVLTLIPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYPPQNLMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VS
198	S9.36 (EC) - W38R	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSF SYPSHGRI YPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP

		QNLTCVWPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR SSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQLNTMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VS
199	S9.37 (EC) - W38Q	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFSYPSHGQIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWN YKHHRLSVNVTAL THRPNILIPGTLESGCP QNLTCVWPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR SSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQLNTMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VS
200	S9.38 (EC) - W38K	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFSYPSHGKIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWN YKHHRLSVNVTAL THRPNILIPGTLESGCP QNLTCVWPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR SSVLTLPQPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQLNTMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VS
201	S9.39 (EC) - W38S_Y40T	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFSYPSHGSITPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWN YKHHRLSVNVTAL THRPNILIPGTLESGCP QNLTCVWPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR

		SSVLTLPQPQDHGTSLTCQVTFPGASVTTNKTVHL NVSYPQNLMTVFQGDGTSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VS
202	S9.41 (EC) - L_ER_R	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFSYPSHGGERYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKRNYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCVWPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR SSVLTLPQPQDHGTSLTCQVTFPGASVTTNKTVHL NVSYPQNLMTVFQGDGTSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VS
203	S9.42 (EC) - D_SI_R	SKDLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFSYPSHGSIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKRNYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCVWPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR SSVLTLPQPQDHGTSLTCQVTFPGASVTTNKTVHL NVSYPQNLMTVFQGDGTSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VS
204	S9.43 (EC) - L_KI_R	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFSYPSHGKIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKRNYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCVWPWACEQGTPPMISWIGTSVSPLDPSTTR SSVLTLPQPQDHGTSLTCQVTFPGASVTTNKTVHL

		NVSYPQNLMTMTVFQGDGTSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWVHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VS
205	S9.44 (EC) - T_EI_E	SKLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGEIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKENYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCPQ NLTCVWPWACEQGTTPMISWIGTSVSPLDPSTTRS SVLTLIPQPQDHGTSLTCQVTFPGASVTTNKTVHLN VSYPPQNLMTMTVFQGDGTSTVLGNGSSLSLPEGQ SLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPSN PGVLELPWVHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLVN S
206	S9.45 (EC) - S_QI_R	SKSLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGGIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKRNYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCVWPWACEQGTTPMISWIGTSVSPLDPSTTR SSVLTLPQPQDHGTSLTCQVTFPGASVTTNKTVHL NVSYPQNLMTMTVFQGDGTSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWVHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VS
207	S9.47 (EC) - R_SS_I_T	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGWYYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESRC QNLTCVWPWACEQGTTPMISWIGTSSSPLDPSTTR SSVLTLPQTPQDHGTSLTCQVTFPGASVTTNKTVHL NVSYPQNLMTMTVFQGDGTSTVLGNGSSLSLPEG

		QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VS
208	S9.48 (EC) - R_DS_I_T	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFSYPSHGWIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESRCP QNLTCVWPWACEQGTPPMISWIGTSDSPLDPSTTR SSVLTLIPTPQDHGTSLTCQVTFFPGASVTTNKTVHL NVSYPQNLMTVFQGDGTSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VS
209	S9.49 (EC) - G_VT_Q_T	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFSYPSHGWIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCVWPWACEQGTPPMISWIGTSVTPLDPSTTR SSVLTQPTPQDHGTSLTCQVTFFPGASVTTNKTVH LNVSYPQNLMTVFQGDGTSTVLGNGSSLSLPE GQSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQP SNPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYL NVS
210	S9.50 (EC) - N_TT_I_Q	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFSYPSHGWIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESNCP QNLTCVWPWACEQGTPPMISWIGTSTTPLDPSTTR SSVLTLPQPQDHGTSLTCQVTFFPGASVTTNKTVHL NVSYPQNLMTVFQGDGTSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS

		NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VS
211	S9.51 (EC) - G_VK_I_E	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGWYIPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCVWPWACEQGTPPMISWIGTSVKPLDPSTTR SSVLTLIPEPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VHL NVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPEG QSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQPS NPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYLN VS
212	S9.52 (EC) - R_SS_Q_T	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGWYIPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESRC QNLTCVWPWACEQGTPPMISWIGTSSSPLDPSTTR SSVLT LQPTPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VH LNVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPE GQSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQP SNPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYL NVS
213	S9.53 (EC) - G_SK_Q_E	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGWYIPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNYKHHRLSVNVTALTHRPNILIPGTLESGCP QNLTCVWPWACEQGTPPMISWIGTSSKPLDPSTTR SSVLT LQPEPQDHGTS LTCQVTFPGASVTTNKT VH LNVSYP PQNL TMTVFQGDGT VSTVLGNGSSLSLPE GQSLRLVCAVDAVDSNPPARLSLSWRGLTLCPSQP SNPGVLELPWWHLRDAAEFTCRAQNPLGSQQVYL

		NVS
214	S9.32 (IgV) - W38T	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGTIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNYKHHRLSVNVT
215	S9.33 (IgV) - W38E	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGEIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNYKHHRLSVNVT
216	S9.34 (IgV) - W38S	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGSIIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNYKHHRLSVNVT
217	S9.35 (IgV) - W38A	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGAIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNYKHHRLSVNVT
218	S9.36 (IgV) - W38R	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGRIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNYKHHRLSVNVT
219	S9.37 (IgV) - W38Q	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGQIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNYKHHRLSVNVT
220	S9.38 (IgV) - W38K	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGKIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNYKHHRLSVNVT
221	S9.39 (IgV) - W38S_Y40T	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGSITPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR

		DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKWNKYKHHRLSVNVT
222	S9.41 (IgV) - L_ER_R	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGERYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKRNYKHHRLSVNVT
223	S9.42 (IgV) - D_SI_R	SKDLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGSIIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKRNYKHHRLSVNVT
224	S9.43 (IgV) - L_KI_R	SKLLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGKIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKRNYKHHRLSVNVT
225	S9.44 (IgV) - T_EI_E	SKTLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGEIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKENYKHHRLSVNVT
226	S9.45 (IgV) - S_QI_R	SKSLTMQSSVTVQEGLCVHVPCSFYPSHGQIYPG PVVHGYWFREGANTDQDAPVATNNPARAVWEETR DRFHLLGDPHTKNCTLSIRDARRSDAGRYFFRMEK GSIKRNYKHHRLSVNVT
227	S9.1-hIgG1 NSLF (sin SS)	S KLLTMQSSVT VQEGLCVHVP CSFSYPSHGW IYPGPVVHGY WFREGANTDQ DAPVATNNPA RAVWEETRDR FHLLGDPHTK NCTLSIRDAR RSDAGRYFFR MEKGSIKWNKY KHHRLSVNVT ALTHRPNILI PGTLESGCPQ NLTCSPWAC EQGTPPMISW IGTSVSPLDP STTRSSVLTL IPQPQDHGTS LTCQVTFPGA SVTTNKTVHL NVSYPQNLMT MTVFQGDGTV STVLGNGSSL SLPEGQSLRL VCAVDAVDSN PPARLSLSWR

		GLTLCPSQPS NPGVLELPWV HLRDAAEFTC RAQNPLGSQQ VYLVNVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSSKAFP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
228	S9.1-hlgG1 NSLF YTE	MGWSCIILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSPSHGWIYPGPVVHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCVWPWACEQGTPP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLIPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVNVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
229	S9.1-hlgG1 NSLF LS	MGWSCIILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSPSHGWIYPGPVVHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCVWPWACEQGTPP

		MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLIPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLTMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVNVSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSV<u>L</u>HEALH<u>S</u>HYTQKSLS LSPGK
230	S9.1-hIgG1 NSLF LV5-112	MGWSCIILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSSYP SHGWIYPGPVVHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCVWPWACEQGTPP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLIPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLTMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVNVSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSSKAFPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNG<u>GCALYPTNCGG</u>GQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
231	S9.1-hIgG1 YTE	MGWSCIILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSSYP SHGWIYPGPVVHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS

		IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCSVPWACEQGTPP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLIPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLTMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTL <u>Y</u> <u>I</u> <u>T</u> <u>R</u> <u>E</u> PEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGK
232	S9.1-hIgG1 LS	MGWSCIILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC VHVPCSFSSYP SHGWIYPGPV VHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCSVPWACEQGTPP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLIPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLTMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSV <u>L</u> HEALH <u>S</u> HYTQKSLS LSPGK
233	S9.1-hIgG1 LV5-	MGWSCIILFLVATATGVHSSKLLTMQSSVTVQEGLC

	112	VHVPCSFSPSHGWIYPGPVVHGYWFREGANTDQ DAPVATNNPARAVWEETRDRFHLLGDPHTKNCTLS IRDARRSDAGRYFFRMEKGSIKWNYKHHRLSVNVT ALTHRPNILIPGTLESGCPQNLTCVWPWACEQGTTP MISWIGTSVSPLDPSTTRSSVLTLIPQPQDHGTSLT CQVTFPGASVTTNKTVHLNVSYPPQNLMTVFQGD GTVSTVLGNGSSLSLPEGQSLRLVCAVDAVDSNPP ARLSLSWRGLTLCPSQPSNPGVLELPWVHLRDAAE FTCRAQNPLGSQQVYLVNSEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNG <u>GCALYPTNCGG</u> QPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
234	hlgG1 NSLF YTE	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL <u>YITRE</u> PEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSSKAFPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
235	hlgG1 NSLF LS	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSSKAFPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV <u>L</u> HEALH <u>S</u> HYTQKSLSLSPGK
236	LV5-112 de NSLF	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL

	de hlgG1	MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSSKAFPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGGCALYPT <u>NCGGG</u> QPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
237	YTE hlgG1	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL <u>YITRE</u> PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
238	LS hlgG1	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV <u>L</u> HEALH <u>S</u> HYTQKSLSLSPGK
239	hlgG1 LV5-112	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGGCALYPT <u>NCGGG</u> QPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK