

ANTICUERPOS ANTI-VARIABLE DELTA 1 DE TCR

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a anticuerpos y fragmentos y variantes de estos que se fijan específicamente al receptor de linfocitos T de linfocitos T gamma delta.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El creciente interés en inmunoterapia de linfocitos T para cáncer se ha enfocado en la evidente capacidad de subconjuntos de linfocitos T alfa beta ($\alpha\beta$) CD8+ y CD4+ para reconocer células cancerosas y para mediar potenciales funcionales protectores de huésped, en particular cuando se derreprimen mediante antagonismo mediado clínicamente de vías inhibitoras ejercidas por PD-1, CTLA-4 y otros receptores. Sin embargo, los linfocitos T $\alpha\beta$ están restringidos por MHC, lo que puede generar enfermedad de injerto contra huésped.

Los linfocitos T gamma delta (linfocitos T $\gamma\delta$) representan un subconjunto de linfocitos T que expresan en su superficie un receptor de linfocitos T (TCR) $\gamma\delta$ distinto que los define. Este TCR está formado por una cadena gamma (γ) y una cadena delta (δ), cada una de las cuales se somete a redistribución de cadena pero tienen una cantidad limitada de genes V en comparación con linfocitos T $\alpha\beta$. Los principales segmentos génicos TRGV que codifican V γ son TRGV2, TRGV3, TRGV4, TRGV5, TRGV8, TRGV9 y TRGV11 y genes no funcionales TRGV10, TRGV11, TRGVA y TRGVB. Los segmentos génicos TRDV más frecuentes codifican V δ 1, V δ 2 y V δ 3, además de varios segmentos V que tienen tanto designación V δ como designación V α (Adams *et al.*, 296:30-40 (2015) *Cell Immunol.*). Los linfocitos T $\gamma\delta$ humanos pueden clasificarse ampliamente en función de sus cadenas de TCR, ya que ciertos tipos γ y δ se encuentran en células con mayor prevalencia, aunque no de manera exclusiva, en uno o más tipos de tejido. Por ejemplo, la mayoría de los linfocitos T $\gamma\delta$ que residen en la sangre expresan TCR V δ 2, comúnmente V γ 9V δ 2, mientras que esto es menos común entre los linfocitos T $\gamma\delta$ que residen en el tejido, tales como los que se encuentran en la piel, que con mayor frecuencia usan el TCR V δ 1 apareado con cadenas gamma, por ejemplo, a menudo apareado con V γ 4 en el intestino.

Los linfocitos T $\gamma\delta$ tienen una función crítica en la vigilancia inmunitaria, al reconocer células malignas o transformadas (tal como células cancerosas) a través de un patrón de marcadores de estrés y luego ejercer citotoxicidad potente y selectiva. Por lo tanto, los linfocitos T $\gamma\delta$

pueden actuar como instrumentistas de una respuesta inmunitaria. La modulación de estas células *in situ* proporciona el potencial de aumentar la inmunogenicidad aun en tumores con baja carga mutacional, lo que ha demostrado ser difícil con otras inmunoterapias. El reconocimiento de tumores por los linfocitos T $\gamma\delta$ no depende de un único antígeno tumoral y moduladores de linfocitos T $\gamma\delta$, por lo tanto tiene potencial en una variedad de indicaciones de enfermedades, que incluyen neoplasias tanto hematológicas como sólidas. El mecanismo de reconocimiento de linfocitos T $\gamma\delta$ no está restringido por MHC.

Los autores de WO2019147735 hipotetizan que algunas células $\gamma\delta$ tienen actividad protumoral o inhiben la respuesta inmunitaria antineoplásica mediada por los linfocitos T $\alpha\beta$.

Los autores postulan que los linfocitos T $\gamma\delta$ son inmunosupresores y, por lo tanto, sugieren que deben ser agotados, inhibidos o bloqueados en un entorno de cáncer con la ayuda de anticuerpos.

Sin embargo, a pesar del enfoque predominante de que los anticuerpos anti- $\gamma\delta$ modularán negativamente la función de las células $\gamma\delta$ al bloquear o inactivar dichas células, se descubrió que existe una correlación positiva entre la infiltración de linfocitos T $\gamma\delta$ y el pronóstico y/o la supervivencia en pacientes.

En comparación con $\alpha\beta$ las interacciones receptor/ligando de TCR, la comprensión de las interacciones receptor/ligando de TCR V δ 1 es limitada. En ausencia de dicha comprensión, los anticuerpos que reconocen los TCR V δ 1 en la actualidad son principalmente herramientas exploratorias para investigar esta interacción. Dichas herramientas son generalmente anticuerpos crudos de bloqueo que sugieren que las interacciones receptor/ligando de TCR dan como resultado el bloqueo, la supresión o la ablación de células V δ 1+. Por ejemplo, los anticuerpos de herramienta TS8,2 y TS-1 se emplean como anticuerpos de bloqueo anti- $\gamma\delta$ en estudios que sugieren que dichos anticuerpos reducen la citotoxicidad de células V δ 1. Estos estudios, combinados con otros, sugieren que el uso de dichos anticuerpos anti-V δ 1 modulan de manera favorable la citotoxicidad de las células V δ 1 en un entorno de enfermedad *in situ* no es concebible y, por lo tanto, la necesidad de anticuerpos que aumenten, y no reduzcan, la citotoxicidad de V δ 1.

Aprovechar los linfocitos T $\gamma\delta$ para inmunoterapia requiere un medio para expandir los linfocitos *in situ* o recolectarlos y expandirlos *ex vivo* antes de volver a infundirlos. El último enfoque se describió previamente mediante el uso de la adición de citocinas exógenas, por

ejemplo, ver WO2017/072367 y WO2018/212808. Los métodos para expandir los linfocitos T $\gamma\delta$ propios de un paciente se describieron mediante el uso de formas modificadas farmacológicamente de hidroximetil but-2-enil pirofosfato (HMBPP) o aminobisfosfonatos aprobados clínicamente. Mediante estos enfoques, se han tratado más de 250 pacientes con

5 cáncer, aparentemente de manera segura, pero con solo raras incidencias de remisión completa. Sin embargo, aun existe una necesidad de agentes activadores que tengan la habilidad probada de expandir grandes cantidades de linfocitos T $\gamma\delta$.

Además, un agente de fijación o activador que pueda dirigirse o fijarse preferencialmente o reconocer o modular o aumentar específicamente la cantidad de células V δ 1+ *in-situ* puede

10 ser altamente deseable como un medicamento.

Sin embargo, mientras que existen medicamentos que potencialmente modulan las células V δ 2+, que incluyen los aminobisfosfonatos tales como Zometa® (ácido zoledrónico), dichos medicamentos están diseñados principalmente para ralentizar la reabsorción ósea. E

15 independientemente de dicha modulación de V δ 2+, existe una necesidad de desarrollar medicamentos diseñados específicamente para fijarse, dirigirse a, modular, activar o aumentar la cantidad de células V δ 1+. Esto se debe, por ejemplo, a que la modulación de V δ 2+ repetida puede dar como resultado un fenotipo duradero y progresivamente agotado.

Además, y dada la naturaleza residente en el tejido predominante de las células V δ 1+, un medicamento ideal capaz de modular V δ 1+ también exhibirá menos efectos no deseables

20 'secundarios' y rápida depuración renal. Habitualmente, dichos efectos no deseados pueden manifestarse al emplear sustancias químicas de moléculas pequeñas. Por ejemplo, los aminobisfosfonatos mencionados anteriormente que se demostró que pueden modular la clase separada de células V δ 2+ (como un efecto secundario en comparación con el efecto modulador primario en el hueso) se asocian con una toxicidad renal que se manifiesta como

25 deterioro de la función renal e insuficiencia renal potencial (por ejemplo, Markowitz et al. (2003) *Kidney Int.* 64(1):281-289). Los efectos no deseados adicionales como los enumera la Agencia Europea de Medicamentos para Zometa incluyen anemia, reacciones de hipersensibilidad, hipertensión, fibrilación arterial, mialgia, dolor general, malestar, aumento de urea en sangre, vómitos, hinchazón de articulaciones, dolor de pecho, etc.

También se debe considerar el entorno *in situ* en el que se encuentran las células V δ 1+. Por

30 ejemplo, previamente se demostró que los linfocitos T $\gamma\delta$ residentes en el tejido no

hematopoyéticos mostraban una respuesta proliferativa fuerte cuando se separaban por primera vez del tejido, pero solo si no se encontraban en contacto celular directo con fibroblastos autólogos. Se descubrió que los linfocitos T residentes en el tejido no hematopoyéticos (linfocitos T $\gamma\delta$) se deben separar de las células no hematopoyéticas (por ejemplo, células estromales, particularmente fibroblastos) a fin de funcionar. Esto sucede porque el contacto directo de los linfocitos con células estromales o epiteliales parece inhibir la expansión de linfocitos T $\gamma\delta$ residentes en el tejido. La observación de que las células preactivadas *in situ* existen en un estado adicionalmente suprimido es otra razón por la que las células V δ 1 no han sido consideradas como una diana terapéutica prometedora hasta la actualidad. De hecho, hasta los hallazgos descritos en la presente, no se ha concebido cómo se podría modular estas células *in situ* de manera favorable y selectiva, donde las células V δ 1+ de sangre y tejido se consideran generalmente ‘en reposo’, ‘preactivadas’ o ‘no activadas’.

Se desarrollaron diversos formatos de anticuerpos biespecíficos y multiespecíficos para una variedad de usos terapéuticos. Los anticuerpos biespecíficos y multiespecíficos se pueden dividir en clases separadas, aunque superpuestas, en función de los tipos de dianas biológicas y modos de acción. Por ejemplo, dichos anticuerpos multiespecíficos se pueden dividir en clases tales como redireccionadores de células efectoras citotóxicas (también denominados anticuerpos biespecíficos que reclutan linfocitos T, acopladores de linfocitos T biespecíficos, TCE o BiTE) e inmunomoduladores duales (DI).

Los TCE (acopladores de linfocitos T) tienen como fin mejorar la respuesta inmunitaria del paciente contra tumores al dirigir los linfocitos T a células tumorales o viceversa, y funcionan al dirigir un primer epítipo de un complejo receptor de linfocitos T de un linfocito T (en general CD3) y un segundo epítipo, que es un antígeno de cáncer o un antígeno asociado a cáncer, tal como un antígeno asociado a un tumor (TAA). Dichos anticuerpos colocalizan las células tumorales y los linfocitos T para promover la inactivación celular del tumor. Los ejemplos de BiTE incluyen el anticuerpo biespecífico CD3 x CD19 blinatumomab, el anticuerpo biespecífico CD3 x EpCAM catumaxomab, y el anticuerpo biespecífico CD3 x HER2 ertumaxomab. Los TCE, tales como los BiTE, en general se proporcionan en un formato scFv, aunque se han proporcionado otros formatos. Por ejemplo, los BiKE son similares a los BiTE, pero se dirigen a CD16 en células NK, en lugar de a CD3.

El receptor de linfocitos T se ha descrito como la estructura receptora más compleja del sistema inmunitario de los mamíferos. Comprende un complejo receptor multiproteico de transmembrana que comprende un receptor de linfocitos T cercano a una cantidad de cadenas de CD3. Por ejemplo, en mamíferos, dicho complejo típico comprende un receptor de linfocitos T, una cadena de CD3 γ , una cadena de CD3 δ y dos cadenas de CD3 ϵ . Estas cadenas se asocian con el receptor de linfocitos T (TCR) junto con una cadena ζ (cadena zeta) que se combinan luego para generar las señales de activación habituales en linfocitos T. Sin embargo, también se han informado complejos alternativos. Por ejemplo, se describieron complejos receptores de linfocitos T que comprenden un receptor de linfocitos T y un homodímero de la cadena zeta. Los correceptores adicionales tales como CD4 y CD8 también pueden ayudar en la función de TCR.

Sin importar la composición del complejo receptor, se estableció que dichos complejos traducen los eventos de fijación de superficie celular a cascadas de señalización de fosforilación intracelular. Estos eventos de fosforilación culminan en la activación de los factores de transcripción tales como NFAT y NF κ B, que generan expresión aumentada de citocinas y proteínas efectoras tales como granzimas y perforina.

Sin embargo, mientras que el uso de dichos TCE para el tratamiento del cáncer continúa siendo un concepto atractivo, en la actualidad, e incluso después de 30 años de esfuerzos conjuntos para avanzar los TCE en desarrollo clínico temprano, muchos de dichos anticuerpos biespecíficos han exhibido seguridad, eficacia y perfiles de fabricación poco llamativos. De hecho, hasta enero de 2020, blinatumomab continúa siendo el único TCE aprobado no retirado. Este fragmento de anticuerpo multiespecífico de TCE se fija al complejo receptor de linfocitos T en un primer brazo de fijación y una diana CD19 en un segundo brazo de fijación.

Los anticuerpos reclutadores de linfocitos T biespecíficos se analizan en Lejeune et al., 2020, Front Immunol., 11:762. Sin embargo, los anticuerpos biespecíficos que existen en esta categoría, en particular los que reclutan linfocitos T mediante fijación de CD3, tienen efectos secundarios significativos que dan como resultado efectos adversos graves, dada la potencia del antígeno de CD3 como un transductor de señal y su ubicuidad en la población de linfocitos T de un paciente. Por lo tanto, para los ejemplos de biespecíficos que se dirigen a CD3 tales como Catumaxomab (retirado actualmente), la administración sistémica (por ejemplo, intravenosa) no es una posibilidad realista. En cambio, la administración más contenida, tal

como intraoperatoria, intraperitoneal, intraabdominal, etc. se contempla más a menudo. Por lo tanto, esto limita la opcionalidad y el uso de dichos biespecíficos como medicamentos. De hecho, incluso para anticuerpos anti-CD3 atenuados para efector (es decir, un CD3 que se dirige al acoplador del complejo de linfocitos T pero no un biespecífico), la toxicidad asociada hace que la administración I.V. sea difícil. Por ejemplo, para limitar la exposición y reducir la toxicidad, el anticuerpo anti-CD3 Foralumab se contempla más a menudo en la actualidad para la administración oral (por ejemplo, en el tratamiento de enfermedad intestinal).

A menudo se indica que muchos de los obstáculos actuales observados con dichos TCE en ensayos clínicos tempranos se deben a los dominios de fijación del complejo de linfocitos T de alta afinidad empleados. Además, se ha propuesto que esto se debe a que las personas que diseñan estos TCE no consideraron debidamente la baja afinidad de los eventos de fijación del complejo TCR natural que se veían obstaculizados por las toxicidades graves que limitan la dosis, que dan como resultado ventanas terapéuticas prohibitivamente estrechas. En relación a esto, se resaltó que muchos desarrolladores de fármacos de TCE tempranos se basan en tres dominios de fijación del complejo de linfocitos T anti-CD3 derivados de OKT3, SP34 y UCHT1. Y todos estos dominios de fijación originales se fijaban con una afinidad relativamente alta en el rango de nM de uno a dos dígitos bajos, lo que equivalía a una afinidad aproximadamente 1.000 veces más alta que un evento de fijación natural. A su vez, se ha propuesto que esto puede dar como resultado efectos profundamente diferentes (y a menudo desfavorables) en la activación de linfocitos T en comparación con la fijación natural del complejo receptor de linfocitos T. Por ejemplo, los desarrolladores de TCE que utilizaron plataformas basadas en la afinidad más alta de OKT3 pueden verse frustrados por el hecho de que OKT3 es apoptótico para linfocitos T en presencia de IL-2.

Por estas razones, se ha vuelto aparente que la fijación del complejo de linfocitos T de baja afinidad es una consideración importante para determinar los parámetros de diseño de terapéuticos de anticuerpo biespecífico que se acoplan a linfocitos T.

Otra cuestión al diseñar dichos TCE, es la necesidad de atenuar la función de Fc. De hecho, habitualmente los TCE requieren la inhibición completa de las funciones efectoras mediadas por Fc a fin de maximizar la eficacia terapéutica y minimizar la toxicidad secundaria debido a que la fijación de Fc al receptor gamma de Fc (FcγR) genera la activación de células efectoras inmunitarias. En realidad, la mayoría de los anticuerpos biespecíficos con direccionamiento de

CD3 actualmente en la práctica clínica tienen dominios Fc con actividad reducida de fijación a FcγR o son fragmentos biespecíficos intencionalmente sin la región Fc. Se esperaría generalmente que un TCE con una función de Fc no atenuada induciría un efecto de citotoxicidad mediada por células dependiente del anticuerpo (ADCC) y agotaría así la población de linfocitos T γδ reconocidos por el anticuerpo. Sin embargo, y nuevamente, al atenuar tal funcionalidad para evitar las complejidades de toxicidad/seguridad, también se puede atenuar un ángulo de eficacia potencialmente importante, por ejemplo, al acoplar células inmunitarias CD16+ o CD32+ o CD64+, o al reducir la semivida del biespecífico (por ejemplo, si se emplean fragmentos más pequeños de anticuerpo biespecífico, tales como BITE). Se esperaría que los métodos para reducir la interacción del FcγR y el TCE (tal como el uso de un formato IgG diseñado para reducir dicha interacción) reduzcan la inmovilización mediada por Fc del TCE y reduzcan el agrupamiento de TCR mediante reticulación con el TCE inmovilizado.

Para abordar algunas, pero no todas, de estas complicaciones, muchas compañías tales como Xencor (Pasadena, CA), MacroGenics (Gaithersburg, MD) y Genentech (San Francisco, CA) recientemente reportaron la reducción de la afinidad de fijación de los brazos de fijación del complejo receptor de linfocitos T en sus plataformas de TCE respectivas. Sin embargo, la reducción de las afinidades de dicha fijación puede dar como resultado menor eficacia efectiva y menor opcionalidad en términos de diseño de TCE y funcionalidad. Por ejemplo, se demostró que la afinidad de los dominios de fijación en dichos TCE impulsa el perfil de distribución *in vivo*. Específicamente, se suele observar que la distribución de TCE está sesgada hacia su diana de mayor afinidad. Por lo tanto, al reducir la afinidad de un dominio de fijación a TCE al complejo de linfocitos T, se suele sesgar luego la distribución fuera de los linfocitos T; los mismos linfocitos necesarios para impulsar la eficacia en tales TCE. En parte es por dichas razones que las ventanas terapéuticas de TCE se denominaron “prohibitivamente estrechas”.

Además, y en particular para tumores sólidos, aun existen obstáculos extras significativos para los terapéuticos inmunomoduladores. Por ejemplo, los enfoques del estado de la técnica actuales incluyen biespecíficos que se dirigen a CD3 en donde un primer dominio se fija a CD3 y un segundo dominio se dirige a un TAA. Sin embargo, estos resultan problemáticos a menudo. Por ejemplo, Middelburg J, *et al.* Overcoming Challenges for CD3-Bispecific Antibody

Therapy in Solid Tumors. *Cancers*. 2021; 13(2):287 resume algunos de estos obstáculos en el espacio de tumores sólidos para dichas porciones inmunomoduladoras que se acoplan a linfocitos T multiespecíficas que incluyen;

- i. cuestiones de toxicidad en la diana fuera del tumor, por ejemplo, los autores resaltan que los TAA de tumores sólidos a menudo también se expresan en tejido de órganos sanos, lo que a su vez puede generar patología inmunitaria y falla de órganos potencialmente grave, como se muestra en un estudio de ratón preclínico mediante el uso de biespecífico de CD3.
- ii. la disponibilidad de células efectoras en el microentorno del tumor (TME), por ejemplo, existen linfocitos T 'indiferenciados' CD3+ convencionales principalmente en la sangre y sistema linfático sin ninguna activación mediada por células dendríticas adicional.
- iii. la calidad de los linfocitos que infiltran tumores (TIL) dado que estos pueden incluir Treg CD3+ y/o linfocitos CD3+ agotados, por ejemplo, los biespecíficos que se dirigen a CD3 pueden inducir la apoptosis de TIL mediante la muerte celular inducida por activación, que obstaculiza una respuesta antitumoral fuerte.

Por lo tanto, existe la necesidad de medicamentos inmunomoduladores multiespecíficos mejorados en donde al menos un dominio de fijación se fije a un linfocito T y al menos un segundo dominio de fijación se dirija a un TAA.

También existe una necesidad de medicamentos mejorados diseñados específicamente para dirigirse a células V δ 1+ y para el tratamiento de infecciones, afecciones autoinmunitarias y cáncer. Específicamente, existe una necesidad de medicamentos que se puedan administrar para mejorar signos y síntomas de enfermedad al fijar específicamente células V δ 1+, dirigirse a células V δ 1+, activar específicamente células V δ 1+, mejorar específicamente la actividad de proliferación y/o citotoxicidad de células V δ 1+ o bloquear específicamente la activación de células V δ 1+.

COMPENDIO DE LA INVENCION

La presente invención proporciona anticuerpos anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR de alta afinidad y fragmentos de anticuerpos de estos. Los anticuerpos de la presente invención tienen un perfil funcional ventajoso. En particular, a diferencia de los anticuerpos anti-V δ 1 del estado de la técnica que se enfocan en la disminución de linfocitos T V δ 1, los anticuerpos de la presente invención son útiles para la activación de linfocitos T V δ 1. A pesar de que pueden

causar regulación descendente de los TCR en linfocitos T a los que se fijan, no ocasionan disminución de linfocitos T V δ 1, sino que estimulan los linfocitos T y por lo tanto pueden ser útiles en entornos terapéuticos que podrían beneficiarse de la activación de este compartimento de linfocitos T. La activación de los linfocitos T V δ 1 es evidente a través de la regulación descendente de TCR, cambios en los marcadores de activación tales como CD25, Ki67, marcador de desgranulación CD107a, NCR (receptores de citotoxicidad natural) y/o 4-1BB. A su vez, la activación de los linfocitos T V δ 1 activa la liberación de citocinas inflamatorias tales como INF γ y TNF α para promover la licencia inmunitaria. Sorprendentemente, los anticuerpos que tienen adecuadamente alta afinidad para TRDV1 producen inactivación aumentada de linfocitos T V δ 1 y, a diferencia de (por ejemplo) los anticuerpos que se dirigen a CD3, la provisión de anticuerpos de alta afinidad es posible sin los efectos adversos asociados con la activación a gran escala a través de CD3. A su vez, los anticuerpos de alta afinidad pueden inducir efectos inmunoestimuladores fuertes a través de linfocitos que infiltran tumores (TIL). Esto se puede lograr con agotamiento o inactivación mínima de las células V δ 1. Por lo tanto, los anticuerpos de la invención pueden considerarse anticuerpos agonistas.

De acuerdo con un primer aspecto de la invención, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:
 una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con cualquiera de SEQ ID NO: 55 a 78; y/o
 una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con cualquiera de SEQ ID NO: 82 a 105
 o que comprende:
 una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con cualquiera de SEQ ID NO: 133 a 143; y/o
 una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con cualquiera de SEQ ID NO: 147 a 157.

De acuerdo con un segundo aspecto de la invención, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:
 una secuencia de HCDR1 que comprende la secuencia de GDSVSSK₁ (SEQ ID NO: 158);

una secuencia de HCDR2 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 53;

una secuencia de HCDR3 que comprende la secuencia de $X_2WX_3X_4X_5X_6DX_7$ (SEQ ID NO: 162), en donde la secuencia de HCDR3 no es SEQ ID NO: 54;

una secuencia de LCDR1 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 79;

5 una secuencia de LCDR2 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 80; y

una secuencia de LCDR3 que comprende la secuencia de $QQX_8YX_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}T$ (SEQ ID NO: 166), en donde la secuencia de LCDR3 no es SEQ ID NO: 81;

en donde cada uno de X_1 a X_{13} es un aminoácido natural;

o

10 un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una secuencia de HCDR1 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 130

una secuencia de HCDR2 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 131

una secuencia de HCDR3 que comprende la secuencia de $X_1X_2YX_3X_4AFDI$ (SEQ ID NO: 183), en donde la secuencia de HCDR3 no es SEQ ID NO: 132;

15 una secuencia de LCDR1 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 144;

una secuencia de LCDR2 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 145; y

una secuencia de LCDR3 que comprende la secuencia de $QQX_5X_6X_7X_8LX_9T$ (SEQ ID NO: 186), en donde la secuencia de LCDR3 no es SEQ ID NO: 146;

20 en donde cada uno de X_1 a X_9 es un aminoácido natural.

En un tercer aspecto de la invención, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este es una variante con maduración de afinidad de un anticuerpo anti-V δ 1 parental o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el

25 anticuerpo anti-V δ 1 original o fragmento de fijación al antígeno de este comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y una secuencia de VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26, o en donde el anticuerpo anti-

V δ 1 parental o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 106 y una secuencia de VL que

30 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 118. Opcionalmente, en una variante con maduración de afinidad, el primer residuo de la secuencia de VH puede ser Q o E.

Opcionalmente, en una variante con maduración de afinidad, los primeros dos residuos de la secuencia de VL pueden estar ausentes en una variante con maduración de afinidad, en comparación con la secuencia parental.

En un cuarto aspecto de la invención, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este es una variante con maduración de afinidad de un anticuerpo anti-V δ 1 parental o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 original o fragmento de fijación al antígeno de este comprende:

- a) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 273 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 282;
- b) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 274 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 283;
- c) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 275 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 284;
- d) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 276 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 285;
- e) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 277 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 286;
- f) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 278 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 287;
- g) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 279 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 288;
- h) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 280 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 289;
- i) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 281 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 290; o
- j) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 312 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 313.

En un quinto aspecto de la invención se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende una secuencia variable de cadena liviana kappa, en la que el residuo en la posición 74 de la secuencia

variable de cadena liviana kappa de acuerdo con el sistema de numeración IMGT no es serina. En algunas formas de realización, la serina puede ser sustituida con un aminoácido de línea no germinal humana en la posición 74. En algunas formas de realización, la sustitución puede ser una mutación no conservadora, por ejemplo, para sustituir la serina con un aminoácido no polar. En algunas formas de realización, la serina puede estar sustituida con una leucina.

En un sexto aspecto de la invención, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija específicamente a una cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T $\gamma\delta$ (TCR) y compite con la fijación a la cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T $\gamma\delta$ (TCR) con un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este de cualquiera de los primero a quinto aspectos de la invención.

En un séptimo aspecto de la invención, se proporciona una secuencia de polinucleótidos que codifica un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de la invención. Por ejemplo, se proporciona una secuencia de polinucleótidos que codifica el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al anticuerpo de este que comprende una secuencia que tiene al menos 70 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 199 a 222, 224 a 247, 249 a 259 o 261 a 271.

En un octavo aspecto de la invención, se proporciona un vector de expresión que comprende la secuencia de polinucleótidos de la invención. También se proporciona una célula huésped que comprende una secuencia de polinucleótidos de la invención o un vector de expresión de la invención. También se proporciona un método para producir cualquier anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este de la invención, que comprende una célula huésped de la invención en un medio de cultivo celular.

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición que comprende un anticuerpo o fragmento de fijación al anticuerpo de este de la invención. También se proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o fragmento de fijación al anticuerpo de este de la invención y un diluyente o portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico. Las composiciones o composiciones farmacéuticas opcionalmente pueden comprender adicionalmente uno o más agentes terapéuticamente activos adicionales.

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un kit que comprende un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al anticuerpo de la invención o una composición farmacéutica de la invención, que opcionalmente comprende instrucciones para su uso y/o un agente activo terapéuticamente adicional.

- 5 En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un método para tratar una enfermedad o trastorno en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al anticuerpo de la invención, o una composición farmacéutica de la invención. También se proporciona un método para modular una respuesta inmunitaria en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación
- 10 al anticuerpo de la invención, o una composición farmacéutica de la invención. La administración de anticuerpos a un sujeto puede ser administración en una cantidad eficaz terapéuticamente.

- En aun un aspecto de la invención adicional, se proporciona un método para mutar un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este, que comprende proporcionar un
- 15 anticuerpo que comprende una cadena liviana kappa que tiene una serina en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT, y la sustitución (por ejemplo, mutación) de la serina a un aminoácido diferente. En algunas formas de realización, la serina puede ser sustituida con un aminoácido de línea no germinal humana en la posición 74. En algunas formas de realización, la sustitución puede ser una mutación no conservadora, por ejemplo,
- 20 para sustituir la serina con un aminoácido no polar. En algunas formas de realización, la serina puede estar sustituida con una leucina.

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un método para preparar un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR variante o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende proporcionar un anticuerpo parental que comprende:

- 25 a) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26;
- b) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 106 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 118;
- c) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 273 y una VL que
- 30 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 282;
- d) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 274 y una VL que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 283;

e) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 275 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 284;

f) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 276 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 285;

g) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 277 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 286;

h) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 278 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 287;

i) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 279 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 288;

j) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 280 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 289;

k) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 281 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 290; o

l) una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 312 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 313;

y someter el anticuerpo a maduración por afinidad, en donde el anticuerpo producido tiene una afinidad mayor a una cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T y δ (TCR) que el anticuerpo parental

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un método para preparar una composición farmacéutica que comprende proporcionar un anticuerpo preparado de acuerdo con un método para preparar un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR variante o fragmento de fijación al antígeno de la invención y coformular el anticuerpo con al menos uno o más diluyentes o portadores aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

En aun un aspecto adicional de la invención, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este de la invención, o una composición farmacéutica de la invención, o un kit de la invención, para su uso en medicina. También se proporciona el uso de un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este de la invención en la fabricación de un medicamento.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: Detección mediante ELISA de antígeno recubierto directamente con anti-Vδ1Ab (REA173, Miltenyi Biotec). Se observó detección solo con aquellos antígenos que contienen el dominio Vδ1. El formato de cremallera de leucina (LZ) parece más potente que el formato de Fc, lo cual es consistente con el ensayo de competencia de flujo celular (no se muestran los datos).

Figura 2: Datos de DELFIA de fago policlonal para selecciones de DV1. (A) Selecciones de heterodímeros: formato de LZ TCR heterodimérico en rondas 1 y 2, con desecciones en LZ TCR heterodimérico en ambas rondas. (B) Selección de homodímeros: ronda 1 se realizó mediante el uso de TCR de fusión de Fc homodimérico con desección en Fc de IgG1 humana seguida de ronda 2 en LZ TCR heterodimérico con desección en LZ TCR heterodimérico. Cada gráfico contiene dos barras para cada diana para representar selecciones de colecciones diferentes.

Figura 3: Captura de IgG: izquierda) Sensogramas de interacción de anti-L1 IgG con L1, derecha) ajustes de estado estacionario, si están disponibles. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente en un instrumento MASS-2. Ajuste de estado estacionario de acuerdo con fijación de Langmuir 1:1.

Figura 4: Resultados de ensayo de regulación descendente de TCR (con anticuerpos precargados THP-1) para los clones 1245_P01_E07, 1252_P01_C08, 1245_P02_G04, 1245_P01_B07 y 1251_P02_C05 (A) o los clones 1139_P01_E04, 1245_P02_F07, 1245_P01_G06, 1245_P01_G09, 1138_P01_B09, 1251_P02_G10 y 1252_P01_C08 (B).

Figura 5: Resultados de ensayo de desgranulación de linfocitos T para clones 1245_P01_E07, 1252_P01_C08, 1245_P02_G04, 1245_P01_B07 y 1251_P02_C05 (A) o clones 1139_P01_E04, 1245_P02_F07, 1245_P01_G06, 1245_P01_G09, 1138_P01_B09 y 1251_P02_G10 (B).

Figura 6: Resultados de ensayo de inactivación (ensayo a base de flujo de THP-1) para clones 1245_P01_E07, 1252_P01_C08, 1245_P02_G04, 1245_P01_B07 y 1251_P02_C05 (A) o clones 1139_P01_E04, 1245_P02_F07, 1245_P01_G06, 1245_P01_G09, 1138_P01_B09 y 1251_P02_G10 (B).

Figura 7: Recuentos celulares totales durante el Experimento 1 del Ejemplo 10. Las muestras se cultivaron con concentraciones variables de anticuerpos anti-Vδ1 descritos en la

presente y se compararon con muestras cultivadas con controles o anticuerpos comparativos. Los gráficos muestran los recuentos celulares totales el (A) día 7, (B) día 14 y (C) día 18.

Figura 8: Análisis de linfocitos T Vδ1 durante el Experimento 1 del Ejemplo 10. Los gráficos muestran (A) el porcentaje de linfocitos T Vδ1, (B) recuento de linfocitos T Vδ1 y (C) cambio de plegamiento de Vδ1 en las muestras el día 18.

Figura 9: Recuentos celulares totales durante el Experimento 2 del Ejemplo 10. Las muestras se cultivaron con concentraciones variables de anticuerpos anti-Vδ1 descritos en la presente y se compararon con muestras cultivadas con controles o anticuerpos comparativos. Los gráficos muestran los recuentos celulares totales el (A) día 7, (B) día 11, (C) día 14 y (D) día 17.

Figura 10: Análisis de linfocitos T Vδ1 durante el Experimento 2 del Ejemplo 10. Los gráficos muestran (A) el porcentaje de linfocitos T Vδ1, (B) recuento de linfocitos T Vδ1 y (C) cambio de plegamiento de Vδ1 en las muestras el día 17.

Figura 11: Análisis de composición celular. Los tipos celulares presentes en las muestras (incluso células no Vδ1) se midieron el día 17 del Experimento 2. Las células se recolectaron y se analizaron mediante citometría de flujo para determinar la expresión superficial de Vδ1, Vδ2 y αβTCR. Los valores en porcentaje también se proporcionan en la **Tabla 12.**

Figura 12: Resultados de ensayo de inactivación de flujo SYTOX. La funcionalidad celular se evaluó con el ensayo de inactivación de flujo SYTOX y los resultados se presentan para (A) el Experimento 1 el día 14 con el uso de células en una relación de efector con respecto a diana (E:T) de 10:1, y (B) el Experimento 2 el día 17 (después de la congelación/descongelación) con el uso de células a una relación E:T de 1:1 y 10:1.

Figura 13: Recuento celular total después de la congelación-descongelación. El gráfico muestra los recuentos celulares totales después de 7 días de cultivar células después de la congelación-descongelación para cultivos en contacto con los anticuerpos B07, C08, E07, G04 u OKT-3 antes de la congelación.

Figura 14: Monitoreo de expansión celular. Los recuentos celulares totales se controlaron hasta el día 42 para células cultivadas después de la congelación-descongelación.

Figura 15: Estudios de equivalencia de fijación en anticuerpos anti-Vδ1 modificados.

Figura 16: Estudios de equivalencia de fijación de anticuerpos anti-Vδ1 en antígeno

V δ 1 de la línea germinal humana y una variante polimórfica de este.

Figura 17: Aumentos conferidos por anticuerpo anti-V δ 1 de los niveles de secreción de citocinas de la célula V δ 1+. Linfocitos T $\gamma\delta$ derivados de tejido incubados con los anticuerpos como se indicó. **(A)** Niveles de TNF-alfa observados **(B)** Niveles de IFN-gamma observados.

Figura 18: Aumentos conferidos por anticuerpo anti-V δ 1 en los niveles/actividad de granzima B de células V δ 1+. Células cancerosas cocultivadas con linfocitos T $\gamma\delta$ derivados de tejidos durante una hora en una relación T:E fija de 1:20 y con los anticuerpos como se indica. Los resultados resaltan las cantidades de granzima B detectadas en las células cancerosas al final del cocultivo.

Figura 19: Modulación y proliferación de células inmunitarias en tejido humano conferidas por anticuerpo anti-V δ 1. Se incubaron biopsias de punción de piel humana (de cinco donantes diferentes) durante 21 días en cultivo con los anticuerpos indicados. **(A)** La cantidad de células pan- $\gamma\delta$ + viables. **(B)** La cantidad de células V δ 1+ viables. **(C)** El porcentaje de células CD25+ V δ 1+ doble positivas viables.

Figura 20: Modulación y proliferación de linfocitos que infiltran tumores (TIL) en tumores humanos conferidas por anticuerpo anti-V δ 1. Estudios en carcinoma de células renales (RCC) +/- anticuerpos **(A)** Aumento en veces de los linfocitos TIL V δ 1+. **(B)** Cantidades totales de linfocitos TIL V δ 1+. **(C)** Estrategia de regulación de ejemplo **(D)** Perfil fenotípico comparativo de superficie celular de linfocitos T V δ 1+ de TIL. **(E)** Análisis de la fracción regulada TIL V δ 1 negativa.

Figura 21: Mejora conferida por anticuerpo anti-V δ 1 de la citotoxicidad mediada por V δ 1+ y la citotoxicidad específica de células enfermas. Ensayos de citotoxicidad/potencia en sistemas modelo que comprenden un tricultivo de células efectoras V δ 1+, células cancerosas monocíticas THP-1 y monocitos primarios sanos no enfermos. **(A)** Cuantificación de cantidades de células THP-1 y monocitos en cocultivo triple con linfocitos T $\gamma\delta$ en presencia de controles o mAb anti-V δ 1. **(B)** Una representación de gráfico de barras que resalta la ventana entre inactivación específica de células enfermas y sanas no enfermas: Gráfico de barras izquierdo; aumento en veces de la inactivación de células enfermas (THP-1) en comparación con la inactivación de células no enfermas (monocitos humanos primarios); Gráfico de barras derecho; mismos datos pero representados como porcentaje de inactivación

mejorado en comparación con controles **(C)** Resultados tabulados que resumen el porcentaje de mejora de la potencia de la inactivación de células efectoras V δ 1+ de células diana THP-1 +/- mAb. **(D)** Resultados tabulados de los valores de EC50 calculados a partir de la Figura (A) representados como cantidades de linfocitos T $\gamma\delta$ necesarias para conferir 50 % de inactivación de células THP-1.

Figura 22: Mejora conferida por anticuerpo multiespecífico de la citotoxicidad mediada por células efectoras V δ 1+. El direccionamiento a un antígeno asociado a enfermedad centrada en tejido: **(A-D)** Cocultivo de ejemplo de células efectoras V δ 1+ con células cancerosas A-431 +/- anticuerpos multiespecíficos que comprenden porciones de fijación biespecífica anti-V δ 1 x anti-TAA (EGFR) en donde el dominio de fijación VL+VH anti-V δ 1 (a la primera diana) está combinado con el dominio CH1-CH2-CH3 de una porción de fijación anti-EGFR (a la segunda diana). **(E-H)** Cocultivo de ejemplo de células efectoras V δ 1+ con células cancerosas A-431 +/- anticuerpos multiespecíficos que comprenden porciones de fijación biespecífica anti-V δ 1 x anti-TAA (EGFR) en donde el dominio de fijación anti-V δ 1 (a la primera diana) comprende un anticuerpo de longitud completa (VH-CH1-CH2-CH3/VL-CL) luego combinado con una porción de fijación a scFv derivado de cetuximab anti-EGFR (a la segunda diana). **(I-J)** Enfoque alternativo para representar los datos: Mejora de porcentaje conferida por anticuerpos multiespecíficos sobre citotoxicidad de células efectoras V δ 1+ hacia células EGFR+ en relación a partes componentes.

Figura 23: Mejora conferida por anticuerpo multiespecífico de la citotoxicidad mediada por V δ 1+ y la citotoxicidad específica de células enfermas. El direccionamiento de un antígeno asociado a enfermedad hematopoyética **(A)** Relaciones E:T necesarias para inducir 50 % de inactivación de células Raji **(B)** Mejora en porcentaje con adición de anticuerpos multiespecíficos V δ 1-CD19.

Figura 24: Rondas de selección de fagos. **(A)** Rondas de selección de fagos 1 a 3 para la colección ADT1-7. **(B)** Rondas de selección de fagos 1 a 3 para la colección ADT1-4. **(C)** Rondas de selección de fagos 1 a 3 para la colección ADT1-4 con una estrategia de selección para aislar aglutinantes de reactividad cruzada de *Macaca fascicularis*.

Figura 25: Un resumen esquemático de selección de anticuerpos maduros mediante expresión en mamíferos. **(A)** Esquema de la clasificación de flujo de la colección ADT1-7. **(B)** Esquema de la clasificación de flujo de la ADT1-4 colección 1 (humano). **(C)** Esquema de la

clasificación de flujo de ADT1-4 colección 2 (*Macaca fascicularis*).

Figura 26: Impacto del cambio de S74L de cadena kappa sobre la afinidad. (A)

Resultados de expresión en mamíferos de linaje ADT1-4: Constante de disociación humana (SPR) en comparación con fijación al antígeno humano (Delfia ELISA, 0.4 nM de antígeno humano) con el uso indicado de LC 74S (círculo abierto) o 74L (círculo relleno). Los resultados resaltan un buen ajuste entre afinidad mejorada por SPR y por fijación al antígeno por Delfia ELISA. Estos resultados también resaltan la fijación mejorada conferida por la modificación de dominio variable S74L. **(B)** Resultados de expresión en mamíferos de linaje

ADT1-4: Constante de disociación de *Macaca fascicularis* (SPR) en comparación con fijación al antígeno de *Macaca fascicularis* (Delfia ELISA, 10 nM de antígeno de *Macaca fascicularis*) con el uso indicado de LC 74S (círculo abierto) o 74L (círculo relleno). **(C)** Resultados de

expresión en mamíferos de linaje ADT1-4: Correlación entre mejoras en la constante de disociación de antígeno humano (SPR) en comparación con constante de disociación de *Macaca fascicularis* (SPR) más uso indicado de LC 74S (círculo abierto) o 74L (círculo

relleno). **(D)** Confirmación adicional del efecto de S74 en comparación con L74 sobre la afinidad del linaje de ADT1-4. La serina de inicio en la posición 74 de la cadena kappa en el ADT1-4 parental de menor afinidad se mutó a una leucina para crear una cadena kappa de SEQ ID No: 504. Esta cadena liviana modificada se emparejó con VH de ADT1-4 de inicio (SEQ ID NO:1) para crear una nueva molécula “ADT1-4 (S74L)” como se indica. La leucina de

inicio en la posición 74 de la cadena kappa del ADT1-4-2 de alta afinidad se revirtió a serina para crear una cadena kappa de SEQ ID NO: 505. Esto se emparejó con VH de ADT1-4-2 (SEQ ID NO: 15) para crear una nueva molécula “ADT1-4-2 (L74S)”. La afinidad de estas moléculas (en comparación con las moléculas de ADT1-4 y ADT1-4-2 de inicio, respectivamente) se determinó mediante análisis SPR mediante el uso de un instrumento

Reichert 4SPR (Reichert Technologies). Los anticuerpos (1,5 ug/ml) se recubrieron sobre un chip sensor de proteína A plana (Reichert Technologies) para obtener un aumento al inicio de aproximadamente 500 uRIU. El heterodímero Vδ1 recombinante humano o de *Macaca fascicularis* se pasó sobre la célula a una concentración de 100 nM, 50 nM, 25 nM, 12,5 nM, 6,25 nM con los siguientes parámetros: 180 s de asociación, 480 s de disociación, velocidad de flujo 25 µl/min, amortiguador de corrida PBS + 0,05 % de Tween 20. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente: **(D i)** Rastros de SPR resultantes que

ilustran la afinidad de los anticuerpos como se indica para el antígeno Vδ1 humano o de *Macaca fascicularis* (D ii) Un resumen tabulado de los resultados.

Figura 27: Uso e intercambio cruzado de CDR3. **(A)** Intercambio cruzado de cadena pesada y cadena liviana de ejemplo entre anticuerpos con maduración de afinidad en linaje ADT1-4 (G04) (0,4 nM resultados de ELISA de TRDV1 humana graduado en mapa de calor). Este “mapa de calor” demuestra el intercambio cruzado de secuencias de CDR3 entre anticuerpos con maduración de afinidad diferente en el linaje ADT1-4, que muestran secuencias de anticuerpos proporcionadas por proceso de maduración de afinidad que no tienen que ser proporcionadas como pares específicos de cadena pesada y liviana. Los resultados resaltan que los anticuerpos con maduración de afinidad pueden intercambiar de manera cruzada cadenas livianas y cadenas pesadas y que las combinaciones de LC/HC diferentes generan resultados equivalentes o mejorados en un estudio de fijación al antígeno de alta especificidad. También se incluyen en la Figura el clon parental de ADT1-4 (G04), (inferior izquierda). **(B)** Selección final de linaje ADT1-4: Uso e intercambio cruzado de CDR3 + ‘Mapa de calor’ de fijación al antígeno de *Macaca fascicularis* en comparación con mAb de G04 parental de ADT1-4 parental de inicio (inferior izquierda). **(C)** Selección final de linaje ADT1-7: Uso e intercambio cruzado de CDR3 + ‘Mapa de calor’ de fijación al antígeno humano en comparación con mAb de E07 parental de ADT1-7 de inicio (inferior izquierda).

Figura 28: Mejora en el plegamiento en fijación para linaje ADT1-4 en comparación con G04 parental de ADT1-4. **(A)** Mejora en el plegamiento en fijación al antígeno Vδ1 humano recombinante. **(B)** Mejora en el plegamiento en fijación al antígeno Vδ1 recombinante de *Macaca fascicularis*. **(C)** Mejora en el plegamiento en MFI Vδ1 primaria. **(D)** Mejora en el plegamiento en MFI de línea celular PEER Vδ1.

Figura 29: Mejora en el plegamiento en fijación para linaje ADT1-7 en comparación con E07 parental de ADT1-7. **(A).** Mejora en el plegamiento en fijación al antígeno Vδ1 humano recombinante. **(B).** Mejora en el plegamiento en MFI Vδ1 primaria. **(C).** Mejora en el plegamiento en MFI de línea celular PEER Vδ1.

Figura 30. Mejoras en el plegamiento en fijación al antígeno humano (y de *Macaca fascicularis*) sobre clones parentales. **(A)** Mejora en el plegamiento en fijación al antígeno humano. Señal de DELFIA ELISA de clones con maduración de afinidad en comparación con ADT1-4 parental (G04), 0,4 nM de antígeno L1 humano recombinante (que contiene antígeno

de TCR V δ 1 humano). **(B)** Mejora en el plegamiento en fijación al antígeno de *Macaca fascicularis* (DV1/GV77 que contiene SEQ ID NO: 308 de *Macaca fascicularis* (madura, menos líder)). Señal de DELFIA ELISA de clones con maduración de afinidad en comparación con ADT1-4 parental (G04), 0,4 nM de antígeno L1 humano recombinante. **(C)** Mejora en el plegamiento en fijación al antígeno humano. Señal de DELFIA ELISA clones con maduración de afinidad en comparación con ADT1-7 parental (E07), 0,4 nM de antígeno L1 humano recombinante.

Figura 31. Mejoras en el plegamiento en KD para antígeno humano (y de *Macaca fascicularis*) sobre clones parentales. **(A)** Mejora en el plegamiento en KD de antígeno humano para linaje ADT1-4 (G04). **(B)** Mejora en el plegamiento en KD de antígeno de *Macaca fascicularis* para linaje ADT1-4 (G04). **(C)** Mejora en el plegamiento en KD de antígeno humano para linaje ADT1-7 (E07).

Figura 32. Análisis de afinidad de fijación (KD mediante SPR) a antígeno V δ 1 humano. **(A)** Resonancia de plasmones superficiales para linaje ADT1-4. **(B)** Resonancia de plasmones superficiales para linaje ADT1-7. **(C)** Valores de KD y cambio en el plegamiento contra clon parental para linaje ADT1-4. **(D)** Valores de KD y cambio en el plegamiento contra clon parental para linaje ADT1-7. **(E)** Relación de cambio de KD en comparación con el clon parental para el linaje ADT1-4. **(F)** Cambio en el plegamiento de KD contra clon parental para linaje ADT1-7.

Figura 33. Análisis de afinidad de fijación (KD mediante SPR) a antígeno de *Macaca fascicularis*. **(A)** Resonancia de plasmones superficiales para linaje ADT1-4 para antígeno de *Macaca fascicularis*. **(B)** Valores de KD para linaje ADT1-4 para antígeno de *Macaca fascicularis*.

Figura 34. Afinidad de fijación a TCR V δ 1 de la superficie celular (EC50 para fijación a V δ 1 de la superficie celular). **(A,B)** El nivel de fijación de los mAb V δ 1 para dos donantes de linfocitos T $\gamma\delta$, ATS006 (A) y TS164 (B). **(C)** Gráfico de barras que representan el promedio de 50 % de valores de fijación de la fijación de los clones ADT1-4 y ADT1-7 a linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 positivos, representado como la media de dos donantes, con estos valores proporcionados en tablas con % de mejora. **(D)** Tabla que resume las IC50 graficadas en (A) & (B), y tipos de células V δ 1 negativas que incluyen células HEK293A, Raji y diversos subconjuntos de leucocitos con células mononucleares de sangre primarias. Para linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 positivos,

los datos se representan como la media de dos donantes.

Figura 35. Regulación descendente de TCR (con anticuerpos solubles). (A,B) Linaje ADT1-4 (A) y linaje ADT1-7 (B). (C) Regulación descendente de TCR promedio – resultados de IC50 de dos donantes de células GD. (D,E) Regulación descendente de TCR de pliegue mejorada a partir de clon ADT1-4 parental (D) y el clon ADT1-7 (E). (F) Valores de 50 % de efecto de (C), con el porcentaje de mejora calculado a partir de los progenitores respectivos de ADT1-4 (superior) y ADT1-7 (inferior). (G) Valores de 50 % de efecto de (C), con la mejora de plegamiento calculada a partir de los progenitores respectivos de ADT1-4 (superior) y ADT1-7 (inferior).

Figura 36. Anticuerpos monoclonales Vδ1 en activación de γδ medida mediante expresión de CD107a. (A,B) Clon ADT1-4-2 en células GD solas (A) o con células THP-1 (B). (C,D) Clon ADT1-7-3 en células GD solas (C) o con células THP-1 (D). (E) Tabla que representa el aumento de porcentaje en expresión de CD107a γδ a partir de células cocultivadas tratadas con la concentración más alta de mAb Vδ1 en comparación con células γδ no cocultivadas no tratadas. (F) Tabla que representa el aumento de porcentaje en expresión de CD107a γδ a partir de células cocultivadas tratadas con la concentración más alta de mAb Vδ1 en comparación con células γδ no tratadas, cocultivadas y no cocultivadas.

Figura 37. Anticuerpos monoclonales Vδ1 en activación de γδ medida mediante expresión de CD25. (A,B) Clon ADT1-4-2 en células GD solas (A) o con células THP-1 (B). (C,D) Clon ADT1-7-3 en células GD solas (C) o con células THP-1 (D). (E) Tabla que representa el aumento de porcentaje en expresión de CD25 γδ a partir de células cocultivadas tratadas con la concentración más alta de mAb Vδ1 en comparación con células γδ no cocultivadas no tratadas. (F) Tabla que representa el aumento de porcentaje en expresión de CD25 γδ a partir de células cocultivadas tratadas con la concentración más alta de mAb Vδ1 en comparación con células γδ no tratadas, cocultivadas y no cocultivadas.

Figura 38. Regulación descendente de TCR de *Macaca fascicularis* (con anticuerpos solubles). (A) Comparación de la capacidad de ADT1-4-2 y ADT1-4 para acoplar y reducir la expresión de VD1 en linfocitos T de γδ de *Macaca fascicularis*. (B) Porcentaje de expresión en superficie celular de VD1 tras el tratamiento con ADT1-4-2. (C) Valor de EC50 individual para diferentes donantes combinados con la desviación media y estándar. (D-G) Estudios adicionales llevados a cabo con muestras de sangre entera de *Macaca fascicularis* (n=5).

Figura 39. Cuantificación de cantidades de células THP-1 vivos después de 24 horas de cocultivo con linfocitos T $\gamma\delta$ en presencia de mAb V δ 1 o controles. **(A)** Ensayo de inactivación de células THP-1 para clones ADT1-4. **(B)** Ensayo de inactivación de células THP-1 para clones ADT1-7. **(C)** Media de EC50 en ensayo de inactivación de THP-1 para clones ADT1-4 y ADT1-7. **(D)** Tabla que resume los EC50 graficados en (C).

Figura 40. Anticuerpos monoclonales V δ 1 en citotoxicidad celular dependiente del anticuerpo (ADCC).

Figura 41. Anticuerpos monoclonales V δ 1 en citotoxicidad dependiente del complemento (CDC).

Figura 42. Preservación de células sanas del clon ADT1-4-2.

Figura 43. Efecto de anticuerpos anti-V δ 1 sobre poblaciones de TIL de biopsias de tumores primarios. **(A,B)** Muestra el % de disminución en expresión de TCR V δ 1 en los linfocitos T $\gamma\delta$ que infiltran tumores totales después de 48 (A) o 72 (B) horas de estimulación de mAb en dos donantes separados, lo que confirma el acoplamiento de la diana en cada caso. **(C)** Muestra la expresión mejorada de CD25 y Ki67 en linfocitos T V δ 1+ después de 48 horas de estimulación con ADT1-4-2 en comparación con estimulación con control de isotipo de IgG1 o ADT1-4. **(D)** Muestra aumentos en el plegamiento sustanciales en la producción de IFN- γ mediante TIL estimulados con ADT1-4-2 o ADT1-7-3 durante 72 horas en presencia de 50 ng/ml de IL-15. **(E)** Muestra que la estimulación de TIL con ADT-1-4-2 o ADT1-7-3 no mejoró la secreción de citocinas IL-6 o IL-17 asociadas al tipo 17 en este punto temporal. **(F,G)** Muestra el % de disminución en expresión de TCR V δ 1 en los linfocitos T $\gamma\delta$ que infiltran tumores totales después de estimulación con mAb en 24 (F) o 72 (G) horas en dos donantes individuales, lo que confirma el acoplamiento de la diana en TIL aislados mediante digestión enzimática. **(H)** Muestra la expresión mejorada dependiente de la dosis de Ki67 en linfocitos T $\gamma\delta$ después de 72 horas de estimulación con ADT1-4-2. **(I,J)** Muestra el aumento en el plegamiento en IFN- γ producida por TIL aislados a partir de dos donantes individuales mediante digestión enzimática y estimulados con ADT1-4-2 en una concentración de 6,66 nM en presencia de 2 ng/ml de IL-15 a 24 (I) o 72 (J) horas. En todos los casos, la concentración del anti-RSV de control y el ADT1-4 parental se emparejan a la concentración más alta usada en el estudio (es decir, una concentración de 6,66 nM para A, C, F, G, H, I, J y una concentración de 66,6 nM para B y E).

Figura 44. Efecto de anticuerpos anti-V δ 1 sobre poblaciones de TIL de biopsias de tumores primarios. (A) Muestra la expresión mejorada de CD25 y Ki67 en linfocitos T $\gamma\delta$ estimulados durante 10 días con ADT1-4-2. **(B)** Muestra un aumento sustancial en linfocitos T $\gamma\delta$ granzima B⁺ perforina⁺ después de 10 días de estimulación con ADT1-4-2. **(C)** Muestra expresión considerablemente mejorada de granzima B y perforina por linfocitos T $\alpha\beta$ CD8⁺ y CD8⁻ después de 10 días de estimulación de linfocitos T V δ 1⁺ que infiltran tumores con ADT1-4-2. **(D)** Muestra producción significativamente aumentada de IFN- γ , y producción moderadamente aumentada de IL-17 y IL-6 por TIL derivados de tumor de pulmón después de estimulación con ADT1-4-2. **(E)** Demuestra la producción mejorada de las quimiocinas CCL2, CCL4 y CXCL10 mediante TIL después de 10 días de estimulación con ADT1-4-2. En todos los casos, el anti-RSV de control y el ADT1-4 parental se emparejaron a la misma concentración que ADT1-4-2 con maduración de afinidad.

Figura 45: Secuencias de clones de linaje ADT1-4 (cadenas livianas)

Figura 46: Secuencias de clones de linaje ADT1-4 (cadenas pesadas).

15 **Figura 47:** Secuencias de clones de linaje ADT1-7 (cadenas livianas).

Figura 48: Secuencias de clones de linaje ADT1-7 (cadenas pesadas)

Figura 49: Los anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1/CD19 exhiben fijación de alta afinidad a V δ 1 humano y V δ 1 de *Macaca fascicularis*, en comparación con el mAb V δ 1 monoclonal parental. Se realizó análisis de resonancia de plasmones superficiales (SPR) con biespecíficos ADT1-4-2/CD19 para evaluar la fijación a antígeno V δ 1 y CD19 humano. El anticuerpo biespecífico se fija tanto a V δ 1 humano como de *Macaca fascicularis*, con solo una reducción pequeña en la afinidad para ambos antígenos.

Figura 50: Los acopladores de linfocitos T biespecíficos V δ 1-CD19 mejoran la citotoxicidad de células dirigidas a CD19⁺ y activación de linfocitos T $\gamma\delta$ mientras preservan linfocitos B CD19⁺ sanos. (A) Expresión de CD19 en células cancerosas NALM-6 y Raji, y linfocitos B primarios y linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 determinada mediante citometría de flujo. **(B-D)** Efecto de biespecíficos V δ 1-CD19 (ADT1-4) parentales y con maduración de afinidad (ADT1-4-2) en células NALM-6 (B), células Raji (C) y citotoxicidad de linfocitos B (D). Los anticuerpos se titularon en presencia de relación E:T de 1:1 con linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 durante 12 horas. El porcentaje de células vivas se calculó mediante microscopía confocal de alto contenido y se normalizó con recuentos de células vivas en ausencia de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1.

(E) Gráfico de barras que representa la cantidad de porcentaje de células vivas después de 12 horas de cocultivo de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1, ya sea células NALM-6, células Raji o linfocitos B en presencia de biespecíficos V δ 1 y controles como se presentan en (B), (C) y (D). **(F-G)** Efecto de biespecíficos V δ 1-CD19 en la expresión en superficie de TCR V δ 1 en presencia de células diana NALM-6 (F) y linfocitos B sanos (G) según se determinó mediante citometría de flujo después de cuatro horas de cocultivo. **(H)** Gráfico de barras que representa el porcentaje máximo de regulación descendente de TCR como se representa en (F) y (G) en las concentraciones máximas (3 μ g/ml). **(I-K)** Efecto de biespecíficos V δ 1-CD19 en la regulación ascendente de CD107a en superficie de células V δ 1 en presencia de células diana NALM-6 (I) y linfocitos B sanos (J) según se determinó mediante citometría de flujo después de cuatro horas de cocultivo. Todos los datos indican una media $\pm$ desviación estándar y son representativos de n=3. Se incluyó blinatumomab (biespecífico CD3-CD19 (BiTE)) como un control en todos los ensayos.

Figura 51: Los clones de V δ 1 con maduración de afinidad en un formato biespecífico se fijan a células diana Her2⁺ y exhiben fijación mejorada a linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1, y citotoxicidad mejorada de células diana Her2⁺. **(A)** Expresión en superficie celular de Her2 y V δ 1 en líneas celulares de cáncer de mama y linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 (B). **(C-F)** Fijación de anticuerpos biespecíficos V δ 1-Her2 y control de mAb Her2 (Trastuzumab) a células Her2⁺ (SK-BR-3 (C), BT-474 (D)), Her2⁻ (MDA-MD-231 (E)) y V δ 1⁺ (F). **(G-I)** Porcentaje de células vivas restantes después de 24 horas de cocultivo en una relación E:T de 1:1 con linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 y células SK-BR-3 (G), células BT-474 (H) y células MDA-MB-231 (I) en presencia de anticuerpos biespecíficos V δ 1-Her2. **(J)** Gráfico de barras que representan el aumento de porcentaje en citotoxicidad después de 24 horas de anticuerpos biespecíficos V δ 1-Her2 en linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1.

Figura 52: Los anticuerpos biespecíficos V δ 1/EGFR exhiben fijación de alta afinidad a EGFR humano y una afinidad de fijación a V δ 1 humano comparable con sus mAb parentales. **(A, B)** Se realizó análisis de resonancia de plasmones superficiales (SPR) con variantes biespecíficas V δ 1/EGFR para evaluar la fijación a V δ 1 humano **(A)** y antígeno de EGFR humano **(B)**. Los mAb parentales, cetuximab y mAb de control negativo se incluyeron con fines de comparación.

Figura 53: El anticuerpo biespecífico V δ 1/EGFR se fija a células diana EGFR⁺ A431 y

linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 (A) Expresión en superficie celular de EGFR y V δ 1 en línea celular A431 y linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 primarios. **(B)** El nivel de fijación mediante anticuerpos biespecíficos V δ 1/EGFR a línea celular A431 o linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 primarios. Las células diana se tiñeron con concentraciones variables de anticuerpo, seguido de anticuerpo de detección de anti-IgG humana fluorescente. Todas las etapas de incubación se llevaron a cabo a 4° C y la fijación de mAb se determinó mediante el uso de citometría de flujo para medir el nivel de mediana de fluorescencia. Las curvas de dosis-respuesta de cuatro parámetros logarítmicos se ajustaron mediante el uso de GraphPad Prism 9.

Figura 54: Los anticuerpos biespecíficos V δ 1/EGFR inducen activación y desgranulación de linfocitos T específicos de EGFR lo que genera citotoxicidad mediada por linfocitos T $\gamma\delta$ aumentada de células dianas A431. (A) Expresión en superficie celular de TCR $\gamma\delta$ en linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 primarios después de cultivo con anticuerpos biespecíficos durante 24 horas en presencia o ausencia de células A431. **(B, C)** La cantidad de células A431 viables (B) y estado de activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 primarios (C) después de cocultivo en una relación 1:1 junto con concentraciones variables de anticuerpo durante 24 horas. La viabilidad se midió mediante tinte de viabilidad y estado de activación con un anticuerpo CD25. **(D)** Desgranulación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 primarios después de cocultivo con células A431 en una relación 1:1 junto con concentraciones variables de anticuerpo durante cuatro horas. La desgranulación se determinó al agregar anticuerpo anti-CD107 α conjugado con fluoróforo directamente en la mezcla de células-anticuerpo al inicio del cocultivo. **(E)** La cantidad de células A431 viables después de 24 horas de cocultivo con 10 pM de anticuerpo y cantidad variable de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 primarios. (A-E) En todos los casos, la fluorescencia se determinó mediante el uso de citometría de flujo para medir el nivel de mediana de fluorescencia. Las curvas de dosis-respuesta de cuatro parámetros logarítmicos se ajustaron mediante el uso de GraphPad Prism 9. Los datos se representan como media $\pm$ SD de dos replicados biológicos

Figura 55: Evidencia adicional de no agotamiento y regulación descendente de CD3 tanto en linfocitos T V δ 1 derivados de la sangre como en linfocitos T V δ 1 asociados a tumor. (A) Muestra el MFI de TCR V δ 1 tras la estimulación con anticuerpo como una indicación de acoplamiento de diana mAb en linfocitos T V δ 1 derivados de la sangre. **(B)** Muestra el MFI de expresión de CD3 en células V δ 1 derivadas de la sangre reguladas

positivamente. La estimulación con el anticuerpo V δ 1 se acopló con células V δ 1 y dio como resultado la regulación descendente de V δ 1 y CD3 en células V δ 1. **(C, D y E)** muestran los efectos de activación y no agotamiento conferidos a linfocitos T V δ 1 asociados a tumores con anticuerpos anti-V δ 1 de ejemplo de esta invención.

- 5 **Figura 56: Los anticuerpos biespecíficos V δ 1xFAP α mejoran la activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 y la lisis de fibroblastos FAP α ⁺. (A)** muestra la cinética de fijación de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1 (ADT-1-4-2), anti FAP α monoclonal (a base de Sibrotuzumab) y anti-V δ 1xFAP α (ADT-1-4-2xSibrotuzumab) para V δ 1 y FAP α recombinante humana según se determinó mediante resonancia de plasmones superficiales (SPR). **(B,C)**
- 10 Fijación de anticuerpos anti-V δ 1 y anti FAP α a fibroblastos FAP α ⁺ **(B)** y linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 **(C)**. **(D,E)** Efecto de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xFAP α y controles monoclonales, en la regulación descendente de TCR V δ 1 en linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en ausencia **(D)** o presencia de fibroblastos FAP α ⁺ **(E)**. **(F-G)** Efecto de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xFAP α y controles monoclonales, en la regulación ascendente de CD107a en linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en ausencia **(F)**
- 15 o presencia de fibroblastos FAP α ⁺ **(G)**. **(H)** Efecto de anticuerpo biespecífico anti-V δ 1xFAP α y controles monoclonales en lisis de fibroblastos mediante linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 después de 24 horas de cocultivo. El porcentaje de células vivas se calculó mediante microscopía confocal de alto contenido y se normalizó con recuentos de células vivas en ausencia de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1.
- 20 **Figura 57: Los anticuerpos biespecíficos V δ 1xMSLN mejoran la activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 y la lisis de células diana MSLN⁺. (A)** Cinética de fijación de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1 (ADT-1-4-2), anti-MSLN monoclonal (a base de anticuerpos divulgados en US 2014/0004121) y anti-V δ 1xMSLN (ADT1-4-2xMSLN) para V δ 1 y MSLN humanos recombinantes según se determinó mediante resonancia de plasmones superficiales
- 25 (SPR). **(B,C)** Fijación de anticuerpos anti-V δ 1 y anti-MSLN a células HeLa MSLN⁺ **(B)** y linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 **(C)**. **(D,E)** Efecto de anticuerpos biespecíficos y monoclonales anti-V δ 1xMSLN sobre la regulación descendente de TCR V δ 1 en linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en ausencia **(D)** o presencia de células OVCAR-3 MSLN⁺ **(E)**. **(F,G)** Efecto de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xMSLN y controles monoclonales en la regulación ascendente de CD107a en
- 30 linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en ausencia **(F)** o presencia de células OVCAR-3 MSLN⁺ **(G)**. **(H)** Efecto de anticuerpo biespecífico anti-V δ 1xMSLN y controles monoclonales en lisis de células HeLa

mediante linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 después de 24 horas de cocultivo. El porcentaje de células vivas se calculó mediante microscopía confocal de alto contenido y se normalizó con recuentos de células vivas en ausencia de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1.

Figura 58: Los anticuerpos biespecíficos V δ 1xPD-1 mejoran la activación de linfocitos T

- $\gamma\delta$ V δ 1 e inhiben el bloqueo del punto de control de linfocitos T PD-1⁺. A)** Análisis de SPR de fijación de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1 (ADT1-4-2), anti-PD-1 (basado en pembrolizumab), anti-RSVIgGcontrolxanti-PD-1 y anti-V δ 1xanti-PD-1 (ADT1-4-2xpembrolizumab) a V δ 1 y PD-1 humanos recombinantes. **B)** Fijación dual de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1 y anti-PD-1 a PD-1 y V δ 1 humanos recombinantes según se determinó mediante SPR. **C)** Expresión de PD-1 en linfocitos T CD4 y CD8 activados con dynabeads anti-CD3/anti-CD28. **D)** Fijación de anticuerpos anti-V δ 1 y anti-PD-1 a linfocitos T CD4 y CD8 activados con PD-1⁺ y linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1. **E)** Efecto de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xPD-1 y controles monoclonales en la regulación descendente de TCR V δ 1 en linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en ausencia o presencia de linfocitos T CD4 PD-1⁺. **F)** EC50 de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xPD-1 en la regulación descendente de TCR V δ 1 en linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en presencia o ausencia de linfocitos T CD4 PD-1⁺. **G)** Efecto de anticuerpo biespecífico anti-V δ 1xPD-1 reticulado con V δ 1 en activación de linfocitos T PD-1⁺.

Figura 59: Los anticuerpos biespecíficos V δ 1x4-1BB mejoran la activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 y linfocitos T 4-1BB⁺. A) Análisis de SPR de fijación de anticuerpos biespecíficos

- anti-V δ 1 (ADT1-4-2), anti-4-1BB (a base de utomilumab), anti-RSVIgGcontrolxanti-4-1BB y anti-V δ 1xanti-4-1BB (ADT1-4-2xutomilumab) a V δ 1 y 4-1BB humanos recombinantes. **B)** Fijación dual de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1 y anti-4-1BB a 4-1BB y V δ 1 humanos recombinantes según se determinó mediante SPR. **C)** Expresión de 4-1BB en linfocitos T CD4 y CD8 activados con dynabeads anti-CD3/anti-CD28. **D)** Fijación de anticuerpos anti-V δ 1 y anti-4-1BB a linfocitos T CD8 activados con 4-1BB⁺ y linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1. **E-F)** Efecto de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1x4-1BB y controles monoclonales en la regulación descendente de TCR V δ 1 en linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en ausencia **(E)** o presencia de linfocitos T CD8 4-1BB⁺ **(F)**. **G)** Efecto de anticuerpo biespecífico anti-V δ 1x4-1BB reticulado con V δ 1 en activación de linfocitos T 4-1BB⁺.

Figura 60: Los anticuerpos biespecíficos V δ 1xOX40 mejoran la activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 y linfocitos T OX40⁺. A) Análisis de SPR de fijación de anticuerpos biespecíficos

anti-V δ 1 (ADT1-4-2), anti-OX40 (basado en potalizumab), anti-RSVIgGcontrolxanti-OX40 y anti-V δ 1xanti-OX40 (ADT1-4-2xpotalizumab) a V δ 1 y OX40 humanos recombinantes. **B)** Fijación dual de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1 y anti-OX40 a OX40 y V δ 1 humanos recombinantes según se determinó mediante SPR. **C)** Expresión de OX40 en linfocitos T CD4 y CD8 activados con dynabeads anti-CD3/anti-CD28. **D)** Fijación de anticuerpos anti-V δ 1 y anti-OX40 a linfocitos T CD4 activados con OX40⁺ y linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1. **E-F)** Efecto de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xOX40 y controles monoclonales en la regulación descendente de TCR V δ 1 en linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en ausencia **(E)** o presencia de linfocitos T CD4 OX40⁺ **(F)**. **G)** Efecto de anticuerpo biespecífico anti-V δ 1xOX40 reticulado con V δ 1 en activación de linfocitos T OX40⁺.

Figura 61: Los anticuerpos biespecíficos V δ 1xTIGIT mejoran la activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 e inhiben el bloqueo del punto de control de linfocitos T TIGIT⁺. **A)** Análisis de SPR de fijación a anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1 (ADT1-4-2), anti-TIGIT (a base de tiragolumab), anti-RSVIgGcontrolxanti-TIGIT y anti-V δ 1xanti-TIGIT (ADT-1-4-2xtiragolumab) a V δ 1 y TIGIT humanos recombinantes. **B)** Fijación dual de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1 y anti-TIGIT a TIGIT y V δ 1 humanos recombinantes según se determinó mediante SPR. **C)** Expresión de TIGIT en linfocitos T CD4 y CD8 activados con dynabeads anti-CD3/anti-CD28. **D)** Fijación de anticuerpos anti-V δ 1 y anti-TIGIT a linfocitos T CD4 y CD8 activados TIGIT⁺ y linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1. **E)** Efecto de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xTIGIT y controles monoclonales en la regulación descendente de TCR V δ 1 en linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en ausencia o presencia de linfocitos T CD8 TIGIT⁺. **F)** EC50 de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xTIGIT en la regulación descendente de TCR V δ 1 en linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en presencia o ausencia de linfocitos T CD8 TIGIT⁺. **G)** Efecto de anticuerpo biespecífico anti-V δ 1xTIGIT reticulado con V δ 1 en activación de linfocitos T TIGIT⁺.

Figura 62: El bioensayo indicador de ADCC no muestra ADCC como resultado de los anticuerpos anti-V δ 1. Las células diana, es decir, células $\gamma\delta$, se incubaron con células efectoras de bioensayo de ADCC en presencia de anticuerpos anti-V δ 1, anticuerpos anti-V δ 1 LAGA (deshabilitado por Fc) y control de isotipo de RSV. La señal de luminiscencia se registró como unidades de luz relativa (RLU) y la inducción de plegamiento se calculó como se describe en los métodos. N=2 donantes de $\gamma\delta$ (realizados en duplicados técnicos) para “anticuerpo anti-V δ 1”, “anticuerpo anti-V δ 1 LAGA”, “RSV”, “OKT3”. N=1 líneas de células Raji

para la condición “Rituximab + Rajis” (en duplicados técnicos) y n=1 donantes de $\gamma\delta$ para las condiciones “anticuerpo anti-V δ 1 + efector” y “anticuerpo anti-V δ 1 LAGA + efector” (se realizaron en duplicados técnicos y singlicato, respectivamente). Relación efector:diana de 3:1.

5 **Figura 63: Los acopladores de linfocitos T biespecíficos V δ 1-CD19 mejoran la citotoxicidad de células dirigidas a CD19⁺ y activación de linfocitos T $\gamma\delta$ mientras preservan linfocitos B CD19⁺ sanos. A-F)** Efecto de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xCD19 y CD3xCD19 en lisis mediada por linfocitos T $\gamma\delta$ o linfocitos T $\alpha\beta$ de células Raji o linfocitos B primarios sanos. El porcentaje de células Raji positivas o linfocitos B primarios sanos se determinaron a 24 horas mediante microscopía confocal en tricultivos de: Linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 con células Raji (**A**) y linfocitos B sanos primarios (**B**); tricultivos de linfocitos T $\alpha\beta$ con células Raji (**C**) y linfocitos B primarios sanos (**D**); o cultivos quad de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 y linfocitos T $\alpha\beta$, con células Raji (**E**) y linfocitos B primarios sanos (**F**). **G-I)** Cuantificación de secreción de IL-17A a partir de linfocitos T $\gamma\delta$ o linfocitos T $\alpha\beta$ 24 horas después de la estimulación post mediante anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xCD19 y CD3xCD19. Sobrenadantes de cultivo celular de cocultivos de células Raji, linfocitos B primarios y: linfocitos T $\gamma\delta$ (**G**); o linfocitos T $\alpha\beta$ (**H**); o linfocitos T $\gamma\delta$ y linfocitos T $\alpha\beta$ (**I**), se recolectaron y se determinó la secreción de IL-17A mediante MSD. Las líneas punteadas representan el nivel más bajo de cuantificación.

20 **Figura 64: La estimulación con un anticuerpo anti-V δ 1+ de afinidad alta mejora la expresión de 4-1BB en linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1. (A)** Expresión mejorada de 4-1BB mediante la adición de un anticuerpo anti-V δ 1 de alta afinidad de ejemplo: Linfocitos T V δ 1⁺ derivados de tejido de 4 donantes humanos diferentes se incubaron con los anticuerpos indicados (1 μ g/ml) en presencia de células THP-1 (2:1 E:T). Después de 4 horas, la expresión de 4-1BB en la superficie de linfocitos T V δ 1⁺ se analizó mediante citometría de flujo. Las células estimuladas con ADT1-4-2 expresión significativamente aumentada de 4-1BB en este punto temporal, que era comparable con la estimulación con OKT3 (* p<0,05, **p<0,01 mediante ANOVA de un factor ordinario con test posterior de Sidak). (**B, C**) Expresión mejorada de 4-1BB; estudios adicionales: Linfocitos T V δ 1⁺ derivados de tejido se incubaron con cantidades tituladas de ADT1-4-2 o control de isotipo anti-IgG1 como se indica en (**B**) presencia de células cancerosas THP-1 o (**C**) monocitos derivados de sangre sana en una relación 1:1. Después

de 4 horas, la expresión de 4-1BB en la superficie de linfocitos T V δ 1⁺ se analizó mediante citometría de flujo. Estimulación con expresión aumentada de ADT1-4-2 de 4-1BB en la superficie de linfocitos T V δ 1. Además, aunque las células V δ 1⁺ activadas preservan las células sanas (ver en otra parte de la presente para análisis adicional), se observó activación inducida por anticuerpo similar cuando se proporcionó reticulación mediante células tumorales o células Fc γ R⁺ sanas.

Figura 65: Regulación ascendente de receptores de citotoxicidad naturales (NCR) en linfocitos T V δ 1⁺ en PBMC primarias (A) Cultivo experimental preparado para incluir análisis de regulación descendente de TCR de confirmación: Los cultivos de PBMC

humanos de tres donantes diferentes se incubaron con 3,33 nM de clones de anticuerpos anti-V δ 1 ADT1-4 y ADT1-7 con maduración de afinidad de ejemplo como se indicó (ver también **B**, **C** y **D**) o controles anti-RSV durante 10 días. Los cultivos también se suplementaron con 4 ng/ml de IL-2 y 10 ng/ml de IL-15 (Miltényi, 130-097-746 y Peprotech, 200-15-500 ug, respectivamente). Después de 10 días en cultivo, se analizó el % de linfocitos T V δ 1⁺ mediante citometría de flujo. Todos los cultivos incubados con los anticuerpos anti-V δ 1 exhibieron reducción marcada en linfocitos V δ 1⁺ detectables (como % de pan-Gamma) con respecto a los cultivos de control de anti-RSV. Un resultado representativo y habitual se muestra aquí para uno de dichos anticuerpos. A través de dicho análisis, es posible confirmar que todos los anticuerpos anti-V δ 1 con maduración de afinidad incluidos en este estudio exhibieron acoplamiento de diana marcado y regulación descendente de TCR conferida. (**B-D**)

Anticuerpos anti-V δ 1 confirieron expresión mejorada de NCR (NKp30, NKp44, NKp46) en células V δ 1⁺ detectables: Junto con la confirmación del acoplamiento de la diana para todos los anticuerpos anti-V δ 1 empleados en este estudio, el cambio en el plegamiento en NCR también se estudió en las células V δ 1⁺ reguladas. Específicamente (**B**) presenta el

cambio en el plegamiento en % de V δ 1⁺, NKp30⁺ doble positivas con respecto a control de RSV (control de RSV normalizado en el extremo derecho y representado como 1 vez). (**C**) presenta el cambio en el plegamiento en % de V δ 1⁺, NKp44⁺ doble positivas con respecto a control de RSV (control de RSV normalizado en el extremo derecho y representado como 1 vez). (**D**) presenta el cambio en el plegamiento en % de V δ 1⁺, NKp46⁺ doble positivas con respecto a control de RSV (control de RSV normalizado en el extremo derecho y representado como 1 vez). Estos resultados combinados resaltan una regulación ascendente consistente

(dependiente del donante) de NCR en V δ 1+ detectables conferida por todos los anticuerpos anti-V δ 1+ en maduración de afinidad empleados en este sistema de cultivo de PBMC primarios extendido de 10 días.

5 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención proporciona anticuerpos anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR, anticuerpos multiespecíficos, de alta afinidad y fragmentos de anticuerpos de estos. Más específicamente, la presente invención se refiere a la provisión y caracterización de anticuerpos optimizados, por ejemplo, anticuerpos preparados de acuerdo con un procedimiento de selección optimizado a partir de anticuerpos anti-V δ 1 parentales, tal como los anticuerpos parentales denominados en la presente G04, E07, C08, B07, C05, E04, F07, G06, G09, B09, G10 y E01. En particular, la presente invención se refiere a anticuerpos optimizados derivados de G04 y E07.

Definiciones

A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente tienen el significado que les otorga habitualmente una persona del oficio de nivel medio al cual pertenece la invención. Como se usa en la presente, los siguientes términos tienen los significados que se les atribuyen a continuación.

Los linfocitos T gamma delta ($\gamma\delta$) representan un subconjunto pequeño de linfocitos T que expresan en su superficie un receptor de linfocitos T (TCR) distinto que los define. Este TCR está formado por una cadena gamma (γ) y una cadena delta (δ). Cada cadena contiene una región variable (V), una región constante (C), una región transmembrana y una cola citoplasmática. La región V contiene un sitio de fijación al antígeno. Existen dos subtipos principales de linfocitos T $\gamma\delta$ humanos: uno que es dominante en la sangre periférica y uno que es dominante en tejidos no hematopoyéticos. Los dos subtipos pueden ser definidos por el tipo de δ y/o γ presente en las células. Por ejemplo, los linfocitos T $\gamma\delta$ que son dominantes en sangre periférica expresan principalmente la cadena variable delta 2 (V δ 2). Los linfocitos T $\gamma\delta$ que son dominantes en tejidos no hematopoyéticos (es decir, que residen en tejidos) expresan principalmente la cadena variable delta 1. Las referencias a “**linfocitos T V δ 1**” o “**linfocitos T V δ 1+**” se refieren a linfocitos T $\gamma\delta$ con una cadena V δ 1, es decir, células V δ 1⁺. Las referencias a “**variable delta 1**” también se pueden denominar V δ 1 o Vd1, mientras que

un nucleótido que codifica una cadena TCR que contiene esta región o el complejo de proteína de TCR que comprende esta región puede denominarse “TRDV1”. Los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos que interactúan con la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ son todos efectivamente anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos que se fijan a V δ 1 y pueden denominarse “anticuerpos anti-variable delta 1 de TCR o fragmentos de fijación al antígeno de estos” o “anticuerpos anti-V δ 1 o fragmentos de fijación al antígeno de estos” o “anticuerpos anti-TRDV1 o fragmentos de fijación al antígeno de estos”.

En la presente, se hacen referencias adicionales a otras cadenas delta tales como la cadena “**variable delta 2**”. Estos pueden denominarse de manera similar. Por ejemplo, las cadenas variables delta 2 se pueden denominar V δ 2, mientras que un nucleótido que codifica una cadena TCR que contiene esta región o el complejo de proteína de TCR que comprende esta región puede denominarse “TRDV2”. En formas de realización preferidas, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos que interactúan con la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ no interactúan con otras cadenas delta tales como V δ 2. En la invención, los anticuerpos son específicos para TRDV1 y no se fijan a TRDV2 (SEQ ID NO: 310) u otros antígenos presentes en un receptor de linfocitos T gamma delta, tal como TRDV3 (SEQ ID NO: 311).

En la presente, también se hacen referencias a “**cadenas variables gamma**”. Estas pueden denominarse cadenas γ o V γ , mientras que un nucleótido que codifica una cadena TCR que contiene esta región o el complejo de proteínas de TCR que comprende esta región puede denominarse TRGV. Por ejemplo, TRGV4 se refiere a una cadena V γ 4. En formas de realización preferidas, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos que interactúan con la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ no interactúan con cadenas gamma tales como V γ 4 (por ejemplo, SEQ ID NO: 309). Los anticuerpos tampoco se fijan o interactúan con otros dominios encontrados dentro de un TCR $\gamma\delta$, tal como TRDJ, TRDC, TRGJ o TRGC

La expresión “**complejo de receptor de linfocitos T**” es el complejo de proteínas que comprenden el “receptor de linfocitos T” (o “TCR”) encontrado en la superficie de linfocitos T responsable de reconocer una variedad de antígenos. El complejo del receptor de linfocitos T comprende las cadenas alfa y beta del receptor de linfocitos T, o en el caso de linfocitos T gamma delta, las cadenas gamma y delta del receptor de linfocitos T, y hasta 6 o más cadenas adicionales, tales como CD3 δ , CD3 γ , CD3 ϵ y CD3 ζ , aunque la formación precisa de los complejos del receptor de linfocitos T puede variar. El complejo del receptor de linfocitos T

media la señalización intracelular en el linfocito T, lo que puede llevar a la activación de linfocitos T.

El término “**anticuerpo**” incluye cualquier constructo de proteína de anticuerpo que comprende al menos un dominio variable de anticuerpo que comprende al menos un sitio de fijación al antígeno (ABS). Los anticuerpos incluyen, entre otros, inmunoglobulinas de los tipos IgA, IgG, IgE, IgD, IgM (así como los subtipos de estas). La estructura general de anticuerpos de inmunoglobulina G (IgG) ensamblados a partir de dos polipéptidos de cadena pesada (H) idénticos y dos polipéptidos de cadena liviana (L) idénticos está bien establecida y altamente conservada en mamíferos (Padlan (1994) *Mol. Immunol.* 31:169-217).

10 Un anticuerpo o inmunoglobulina (Ig) convencional es una proteína que comprende cuatro cadenas de polipéptidos: dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas livianas (L). Cada cadena se divide en una región constante y un dominio variable. Los dominios variables de cadena pesada (H) se abrevian en la presente como VH, y los dominios variables de cadena liviana (L) se abrevian en la presente como VL. Estos dominios, los dominios relacionados a estos y
15 los dominios derivados de estos, pueden denominarse en la presente dominios variables de cadena de inmunoglobulina. Los dominios VH VL (también denominados regiones VH y VL) pueden subdividirse además en regiones, denominadas “regiones determinantes de la complementariedad” (“CDR”), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas “regiones de marco” (“FR”). Las regiones de marco y determinantes de la
20 complementariedad se definieron precisamente (Kabat *et al.* Sequences of Proteins of Immunological Interest, quinta edición, U.S. Department of Health and Human Services, (1991) número de publicación de NIH 91-3242). También existen convenciones alternativas de numeración para secuencias de CDR, por ejemplo, las establecidas en Chothia *et al.* (1989) Nature 342: 877-883 o como se resumen en IMGT.org. En un anticuerpo convencional, cada
25 VH y VL está compuesta por tres CDR y cuatro FR, dispuestas desde el terminal amino hasta el terminal carboxi en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. El tetrámero de anticuerpo convencional de dos cadenas de inmunoglobulina pesadas y dos cadenas de inmunoglobulina livianas está formado con las cadenas de inmunoglobulina pesadas y livianas interconectadas, por ejemplo, por enlaces disulfuro, y las cadenas pesadas
30 conectadas de manera similar. La región constante de cadena pesada incluye tres dominios, CH1, CH2 y CH3. La región constante de cadena liviana está compuesta de un dominio, CL.

El dominio variable de las cadenas pesadas y el dominio variable de las cadenas livianas son dominios de fijación que interactúan con un antígeno. Las regiones constantes de los anticuerpos en general median la fijación del anticuerpo para alojar tejidos o factores, incluso diversas células del sistema inmunitario (por ejemplo, células efectoras) y el primer componente (C1q) del sistema del complemento clásico.

Un “**fragmento**” del anticuerpo (que también puede denominarse “fragmento de anticuerpo”, “fragmento de inmunoglobulina”, “fragmento de fijación al antígeno” o “polipéptido de fijación al antígeno”), como se usa en la presente, se refiere a una porción de un anticuerpo (o constructos que contienen dicha porción) que se fija específicamente a la diana, la cadena variable delta 1 ($V\delta 1$) de un receptor de linfocitos T $\gamma\delta$ (por ejemplo, una molécula en la que una o más cadenas de inmunoglobulina no es de longitud completa, pero que se fija específicamente a la diana). Ejemplos de fragmentos de fijación abarcados dentro de la expresión fragmento de anticuerpo incluyen:

(i) un fragmento Fab (un fragmento monovalente que consiste en los dominios VL, VH, CL y CH1);

(ii) un fragmento $F(ab')_2$ (un fragmento bivalente que consiste en dos fragmentos Fab ligados mediante un puente disulfuro en la región bisagra);

(iii) un fragmento Fd (que consiste en los dominios VH y CH1);

(iv) un fragmento Fv (que consiste en los dominios VL y VH de un único brazo de un anticuerpo);

(v) un fragmento variable monocatenario, scFv (que consiste en los dominios VL y VH unidos, mediante el uso de métodos recombinantes, mediante un ligador sintético que les permite formarse como una única cadena proteica en la que las regiones VL y VH se aparean para formar moléculas monovalentes);

(vi) un VH (un dominio variable de cadena de inmunoglobulina que consiste en un dominio VH);

(vii) un VL (un dominio variable de cadena de inmunoglobulina que consiste en un dominio VL);

(viii) un anticuerpo de dominio (dAb, que consiste en el dominio VH o el dominio VL);

(ix) un minicuerpo (que consiste en un par de fragmentos scFv que están ligados a través de dominios CH3); y

(x) un diacuerpo (que consiste en un dímero no covalente de fragmentos scFv que consisten en un dominio VH de un anticuerpo conectado mediante un ligador de péptido pequeño a un dominio VL de otro anticuerpo).

5 “**Anticuerpo humano**” se refiere a anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana. Los sujetos humanos a los que se administraron dichos anticuerpos humanos no generaron respuestas de anticuerpos de especies cruzadas (por ejemplo, denominadas respuestas HAMA, anticuerpo humano-anti-ratón) a los aminoácidos primarios contenidos dentro de dichos anticuerpos. Dichos anticuerpos humanos pueden incluir residuos de aminoácidos no codificados por
10 secuencias de inmunoglobulina de la línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas mediante mutagénesis aleatoria o específica del sitio o mediante mutación somática), por ejemplo, en las CDR y, en particular, en CDR3. Sin embargo, el término no pretende incluir anticuerpos en los que las secuencias de CDR derivadas de la línea germinal de otras especies de mamíferos, tales como un ratón, se injertaron en secuencias de marco
15 humanas. Los anticuerpos humanos que se preparan, expresan, crean o aíslan mediante medios recombinantes, tales como los anticuerpos expresados mediante el uso de un vector de expresión recombinante transfectado en una célula huésped, los anticuerpos aislados de una colección de anticuerpos humanos combinatorios recombinantes, anticuerpos aislados de un animal (por ejemplo, un ratón) que es transgénico para genes de inmunoglobulina humana
20 o anticuerpos preparados, expresados, creados o aislados mediante cualquier otro medio que involucra el empalme de secuencias génicas de inmunoglobulina humana con otras secuencias de ADN, también se pueden denominar “**anticuerpos humanos recombinantes**”. La sustitución de al menos un residuo de aminoácido en la región de marco de un dominio variable de inmunoglobulina no humana con el residuo correspondiente de un dominio
25 variable humano se denomina “**humanización**”. La humanización de un dominio variable puede reducir la inmunogenicidad en seres humanos.

“**Especificidad**” se refiere a la cantidad de tipos diferentes de antígenos o determinantes antigénicos a los cuales un anticuerpo particular o fragmento de fijación al antígeno de este se puede fijar. La especificidad de un anticuerpo es la capacidad del anticuerpo para reconocer
30 un antígeno particular como una entidad molecular única y distinguirlo de otro. Un anticuerpo que “se fija específicamente” a un antígeno o un epítipo es una expresión bien entendida en

la técnica. Se dice que una molécula exhibe “fijación específica” si reacciona más frecuentemente, más rápidamente, con mayor duración y/o con mayor afinidad con un antígeno o epítipo diana particular, que con dianas alternativas. Un anticuerpo “se fija específicamente” a un antígeno o epítipo diana si se fija con mayor afinidad, avidez, más fácilmente y/o con mayor duración de la que se fija a otras sustancias.

Los anticuerpos de la presente invención incluyen anticuerpos monoespecíficos (es decir, anticuerpos que solo se fijan a un antígeno) y anticuerpos multiespecíficos. Un “**anticuerpo multiespecífico**” es un anticuerpo que puede fijarse a una pluralidad de epítopos diferentes de manera simultánea o secuencial. En general, los epítopos no estarán en el mismo antígeno. Por lo tanto, un anticuerpo multiespecífico tiene la capacidad de fijarse selectivamente a epítopos presentes en diferentes antígenos a través de una pluralidad de dominios de fijación diferentes. Esto contrasta con los anticuerpos monoespecíficos convencionales que no tienen esta capacidad. En cambio, un “**anticuerpo monoespecífico**” solo tiene fijación específica para un antígeno, aunque pueden tener múltiples sitios de fijación para ese antígeno (por ejemplo, la valencia de un anticuerpo IgG humano completo es 2, y la valencia de otros anticuerpos puede ser mayor, pero si el anticuerpo solo reconoce un antígeno, aun se clasifica como un anticuerpo monoespecífico). Por lo tanto, los anticuerpos multiespecíficos de la invención se fijan a múltiples antígenos diferentes de manera simultánea y/o secuencial.

En algunas formas de realización de la invención, los anticuerpos son anticuerpos biespecíficos. Un “**anticuerpo biespecífico**” es un anticuerpo que puede fijarse a dos epítopos diferentes de manera simultánea y/o secuencial. En general, los epítopos no estarán en el mismo antígeno. Por lo tanto, los anticuerpos biespecíficos tienen la capacidad de fijarse selectivamente a dos epítopos diferentes presentes en dos antígenos diferentes a través de dos dominios de fijación diferentes. Esto contrasta con los anticuerpos monoespecíficos convencionales que no tienen esta capacidad. Por lo tanto, los anticuerpos biespecíficos de la invención se fijan a dos antígenos diferentes de manera simultánea y/o secuencial.

“**Afinidad**”, representada por la constante de equilibrio para la disociación de un antígeno con un polipéptido de fijación al antígeno (KD), es una medida de la fuerza de fijación entre una determinante antigénica y un sitio de fijación al antígeno en el anticuerpo (o fragmento de fijación al antígeno de este): a menor valor de KD, mayor la fuerza de fijación entre un

determinante antigénico y el polipéptido de fijación al antígeno. Alternativamente, la afinidad también se puede expresar como la constante de afinidad (KA), que es 1/KD. La afinidad se puede determinar con métodos conocidos, en función del antígeno específico de interés. Por ejemplo, KD se puede determinar mediante resonancia de plasmones superficiales.

- 5 Cualquier valor de KD menor de 10^{-6} se considera indicativo de fijación. La fijación específica de un anticuerpo, o fragmento de fijación al antígeno de este, a un antígeno o determinante antigénico se puede determinar de cualquier manera adecuada conocida, que incluye, por ejemplo, análisis de Scatchard y/o ensayos de fijación competitivos, tales como radioinmunoensayos (RIA), inmunoensayos enzimáticos (EIA) y ensayos de competencia tipo
- 10 sándwich, diálisis de equilibrio, fijación de equilibrio, filtración de gel, ELISA, resonancia de plasmones superficiales o espectroscopía (por ejemplo, mediante el uso de un ensayo de fluorescencia) y las diferentes variantes de estos conocidas en la técnica.

- “**Avidez**” es la medida de la fuerza de fijación entre un anticuerpo, o fragmento de fijación al antígeno de este, y el antígeno pertinente. La avides se relaciona tanto a la afinidad entre un
- 15 determinante antigénico y su sitio de fijación al antígeno en el anticuerpo como a la cantidad de sitios de fijación pertinentes presentes en el anticuerpo.

“**In situ**” significa en el lugar natural u original, en lugar de ser movido a otro lugar. Por ejemplo, una célula V δ 1+ *in situ* en un paciente se refiere a una célula V δ 1 *in vivo*, a diferencia de una célula *in vitro* o *ex vivo*.

- 20 “**Células V δ 1+ de tejido humano**” y “**células V δ 1+ hematopoyéticas y de sangre**” y “**células V δ 1+ de linfocitos que infiltran tumores (TIL)**” se definen como células V δ 1+ contenidas en o derivadas de tejido humano o del sistema sanguíneo hematopoyético o de tumores humanos, respectivamente. Todos los tipos celulares mencionados se pueden identificar por su (i) ubicación o de dónde se derivan y (ii) su expresión de los TCR V δ 1+.

- 25 “**Anticuerpos moduladores**” son anticuerpos que confieren un cambio medible que incluye, entre otros, un cambio medible en ciclo celular y/o en cantidad de células y/o viabilidad celular y/o en uno o más marcadores de superficie celular y/o en la secreción de una o más moléculas secretoras (por ejemplo, citocinas, quimiocinas, leucotrienos, etc.) y/o una función (tal como citotoxicidad hacia una célula diana o célula enferma), al entrar en contacto con o
- 30 fijarse a una célula que expresa la diana a la cual se fija el anticuerpo. Un método para “modular” una célula, o población de estas, se refiere a un método en donde al menos un

cambio medible en dicha célula o células, o secreción de estas, se activa para generar una o más “células moduladas”.

Una “**respuesta inmunitaria**” es un cambio medible en al menos una célula, o un tipo de célula, o una vía endocrina, o una vía exocrina, del sistema inmunitario (que incluye, entre
5 otros, una respuesta mediada por células, una respuesta humoral, una respuesta de citocinas, una respuesta de quimiocinas) tras la adición de un anticuerpo modulador.

Una “**célula inmunitaria**” se define como una célula del sistema inmunitario que incluye, entre
10 otros, células CD34+, linfocitos B, células CD45+ (antígeno común de linfocitos), linfocitos T alfa-Beta, linfocitos T citotóxicos, linfocitos T auxiliares, células plasmáticas, neutrófilos, monocitos, macrófagos, glóbulos rojos, plaquetas, células dendríticas, fagocitos, granulocitos, células linfoides innatas, células *Natural Killer* (NK) y linfocitos T gamma delta. En general, las células inmunitarias se clasifican con ayuda de análisis de moléculas de superficie celular de combinación (por ejemplo, a través de citometría de flujo) para identificar o agrupar para
15 diferenciar células inmunitarias en subpoblaciones. Estas pueden subdividirse adicionalmente con análisis adicional. Por ejemplo, los linfocitos CD45+ pueden subdividirse adicionalmente en poblaciones v̄ positivas y poblaciones v̄ negativas.

“**Sistemas modelo**” son modelos biológicos o representaciones biológicas diseñadas para
auxiliar en la comprensión de cómo un medicamento tal como un anticuerpo o fragmento de
fijación al antígeno de este pueden funcionar como un medicamento en la mejora de un signo
20 o síntoma de enfermedad. Tales modelos incluyen por lo general el uso de células enfermas, células no enfermas, células sanas, células efectoras y tejidos, etc. *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo*, y en los que el rendimiento de dichos medicamentos se estudia y compara.

Las “**células enfermas**” exhiben un fenotipo asociado con la progresión de una enfermedad,
tal como un tipo de cáncer, una infección tal como una infección viral, o una afección
25 inflamatoria o enfermedad inflamatoria. Por ejemplo, una célula enferma puede ser una célula tumoral, una célula de tejido autoinmunitario o una célula infectada viralmente. En consecuencia, dichas células enfermas pueden definirse como tumorales, o infectadas viralmente, o inflamatorias.

“**Células sanas**” se refiere a células normales que no están enfermas. También se pueden
30 denominar células “**normales**” o “**no enfermas**”. Las células no enfermas incluyen células no cancerosas, no infectadas o no inflamatorias. Dichas células se emplean a menudo junto con

células enfermas relevantes para determinar la especificidad para la célula enferma conferida por un medicamento y/o para comprender mejor el índice terapéutico de un medicamento.

“Especificidad para células enfermas” es una medida de cuán efectiva es una célula efectora o población de estas (tal como, por ejemplo, una población de células V δ 1+) es para distinguir e inactivar células enfermas, tal como células cancerosas, mientras preserva células no enfermas o sanas. Este potencial se puede medir en sistemas modelo y puede involucrar comparar la propensión de una célula efectora, o una población de células efectoras, para inactivar selectivamente o lisar células enfermas en comparación con el potencial de dichas células efectoras para inactivar o lisar células no enfermas o sanas. Dicha especificidad para células enfermas puede informar el índice terapéutico potencial de un medicamento.

“Especificidad mejorada para células enfermas” describe un fenotipo de una célula efectora tal como, por ejemplo, una célula V δ 1+, o población de esta, que fue modulado para aumentar adicionalmente su capacidad para inactivar específicamente células enfermas. Esta mejora se puede medir en una variedad de maneras que incluyen cambio de plegamiento o aumento de porcentaje, en especificidad o selectividad de inactivación de células enfermas.

“ADCC” o **“citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos”** describe una respuesta inmunitaria contra células recubiertas con anticuerpos fijados a los antígenos de superficie de la célula. Es un proceso mediado por células, mientras que una célula efectora inmunitaria (tal como célula NK, por ejemplo) reconoce anticuerpos fijados a la célula, lo que activa la desgranulación y lisis de la célula diana. En general, esto es mediado por interacciones de Fc-Fc γ . La región de Fc de anticuerpo fijado por células recluta células efectoras que expresan receptores de Fc γ (por ejemplo, células NK), lo que genera la desgranulación de la célula efectora y la muerte de la célula diana.

“Habilitación por Fc” se refiere a un anticuerpo que comprende una región Fc funcional (región cristizable del fragmento), es decir, una región Fc que no fue deshabilitada mediante mutación o de otra forma. Los anticuerpos habilitados por Fc demuestran función de Fc no atenuada. El anticuerpo habilitado por Fc puede comprender una secuencia de cadena pesada IGHC humana según se enumera en IMGT que no fue modificada o modificada mediante ingeniería genética o construida para reducir la fijación a uno o más receptores gamma de Fc. Por ejemplo, a través de mutación de bisagra de IGHC o mediante construcción de un anticuerpo que comprende dominios constantes de cadena pesada que

son quiméricos o híbridos para secuencias de IGHC de IgG1/IgG2A o IgG1/IgG4.

Adecuadamente, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este (es decir, polipéptido) de la invención está aislado. Un polipéptido “aislado” es uno retirado de su entorno original. El término “aislado” se puede usar para referirse a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigénicas (por ejemplo, un anticuerpo aislado que se fija específicamente a Vδ1, o un fragmento de este, está sustancialmente libre de anticuerpos que se fijan específicamente a antígenos que no son Vδ1). El término “aislado” también se puede usar para referirse a preparaciones donde el anticuerpo aislado es suficientemente puro para ser administrado terapéuticamente cuando se formula como un ingrediente activo de una composición farmacéutica, o al menos 70-80 % (p/p) puro, con mayor preferencia, al menos 80-90 % (p/p) puro, aun con mayor preferencia, 90-95 % puro; y, con máxima preferencia, al menos 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 % (p/p) puro.

Adecuadamente, los polinucleótidos usados en la presente invención están aislados. Un polinucleótido “aislado” es uno que se retira de su entorno original. Por ejemplo, un polinucleótido aislado se aísla si se lo separa de algunos o todos los materiales coexistentes en el sistema natural. Se considera que un polinucleótido está aislado, por ejemplo, si está clonado en un vector que no es parte de su entorno natural o si está comprendido dentro de cADN.

El anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este puede ser una “**variante funcionalmente activa**” que también incluye variantes alélicas naturales, así como mutantes o cualquier otra variante no natural. Como se sabe en la técnica, una variante alélica es una forma alternativa de un (poli) péptido que se caracteriza por tener una sustitución, eliminación o adición de uno o más aminoácidos que no altera esencialmente la función biológica del polipéptido. A modo de ejemplo no limitativo, dichas variantes funcionalmente activas pueden funcionar cuando los marcos que contienen las CDR están modificadas, cuando las mismas CDR están modificadas, cuando dichas CDR están injertadas en marcos alternativos, o cuando se incorporan extensiones del terminal N o C. Además, los dominios de fijación que contienen CDR se pueden emparejar con cadenas de componentes diferentes tales como las compartidas con otro anticuerpo. Tras compartir con las denominadas cadenas pesadas ‘comunes’ o livianas ‘comunes’, dichos dominios de fijación aun pueden funcionar. Además,

dichos dominios de fijación pueden funcionar cuando se multimerizan. Además, ‘anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos’ también pueden comprender variantes funcionales en donde las VH o VL o los dominios constantes se modificaron para alejarse o acercarse a secuencias canónicas diferentes (por ejemplo, como se enumera en IMGT.org) y que aun funcionan.

Para los fines de comparación de dos secuencias de polipéptidos cercanamente relacionados, el “% de identidad de secuencia” entre una primera secuencia de polipéptido y una segunda secuencia de polipéptido se puede calcular mediante el uso de NCBI BLAST v2.0, con el uso de ajustes estándar para secuencias de polipéptidos (BLASTP). Para los fines de comparación de dos secuencias de polinucleótidos cercanamente relacionados, el “% de identidad de secuencia” entre una primera secuencia de nucleótidos y una segunda secuencia de nucleótidos se puede calcular mediante el uso de NCBI BLAST v2.0, con el uso de ajustes estándar para secuencias de nucleótidos polipéptidos (BLASTN).

Se considera que las secuencias de polinucleótidos o polipéptidos son iguales o “**idénticas**” a otras secuencias de polipéptidos o polinucleótidos si comparten 100 % de identidad de secuencia en toda su longitud. Los residuos en secuencias se numeran de izquierda a derecha, es decir, del terminal N al C en el caso de polipéptidos; del terminal 5’ al 3’ en el caso de polinucleótidos.

En algunas formas de realización, cualquier % de identidad de secuencia especificado de una secuencia se calcula sin las secuencias de todas las 6 CDR del anticuerpo. Por ejemplo, el anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este puede comprender una secuencia de región de cadena pesada variable que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de una secuencia de región de cadena pesada variable especificada y/o una secuencia de región de cadena liviana variable que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia de región de cadena liviana variable específica, en donde cualquier variación de aminoácidos tiene lugar solo en las regiones de marco de las secuencias de regiones de cadena pesada y liviana variable. En dichas formas de realización,

el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este que tienen ciertas identidades de secuencia retienen las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada y liviana completas del anticuerpo anti-V δ 1 correspondiente o fragmento de fijación al antígeno de este. En un ejemplo más específico, aunque sin ser limitante y solo para ilustrar adicionalmente estas formas de realización de la invención, se proporciona un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40, en donde cualquier variación de aminoácidos tiene lugar solo en las regiones de marco de las secuencias de región de cadena pesada y liviana variables. Por lo tanto, el anticuerpo en este ejemplo específico comprende además una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95.

Además, los anticuerpos y fragmentos de fijación al antígeno de estos que se proporcionan en la presente pueden comprender una secuencia variable de cadena liviana kappa y retener un residuo de aminoácido en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT que no es serina, por ejemplo, un residuo no polar y/o que no es de la línea germinal, por ejemplo, comprenden un residuo de leucina en esta posición. Por ejemplo, aunque sin ser limitante y solo para ilustrar adicionalmente estas formas de realización de la invención, se proporciona un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40, en donde cualquier variación de aminoácidos tiene lugar solo en las regiones de marco de las secuencias de región de cadena pesada y liviana variables, y en donde el anticuerpo comprende una secuencia variable de cadena liviana kappa que comprende un residuo de aminoácido en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT que

no es de la línea germinal y/o no es polar (por ejemplo, un residuo de leucina en esta posición). El anticuerpo de este ejemplo específico comprende además una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53, una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95.

Una “**diferencia**” entre secuencias se refiere a una inserción, eliminación o sustitución de un único residuo de aminoácido en una posición de la segunda secuencia, en comparación con la primera secuencia. Dos secuencias de polipéptidos pueden contener una, dos o más de dichas diferencias de aminoácidos. Las inserciones, eliminaciones o sustituciones en una segunda secuencia que por lo demás idéntica (100 % de identidad de secuencia) a una primera secuencia dan como resultado un % de identidad de secuencia reducido. Por ejemplo, si las secuencias idénticas tienen una longitud de 9 residuos de aminoácidos, una sustitución en la segunda secuencia da como resultado una identidad de secuencia de 88,9 %. Si las secuencias de polipéptidos primera y segunda tienen una longitud de 9 residuos de aminoácidos y comparten 6 residuos idénticos, las secuencias de polipéptidos primera y segunda comparten más de 66 % de identidad (las secuencias de polipéptidos primera y segunda comparten 66,7 % de identidad).

Alternativamente, a los fines de comparar una primera secuencia de polipéptidos de referencia con una segunda secuencia de polipéptidos comparativa, se puede determinar la cantidad de adiciones, sustituciones y/o eliminaciones hechas a la primera secuencia para producir la segunda secuencia. Una “**adición**” es la adición de un residuo de aminoácido en la secuencia del primer polipéptido (que incluye adición en cualquier terminal del primer polipéptido). Una “**sustitución**” es la sustitución de un residuo de aminoácido en la secuencia del primer polipéptido con un residuo de aminoácido diferente. Dicha sustitución puede ser conservadora o no conservadora. Una “**eliminación**” es la eliminación de un residuo de aminoácido de la secuencia del primer polipéptido (que incluye eliminación en cualquier terminal del primer polipéptido).

Mediante el uso de los códigos de tres letras y una letra, los aminoácidos naturales se pueden denominar de la siguiente manera: glicina (G o Gly), alanina (A o Ala), valina (V o Val), leucina

(L o Leu), isoleucina (I o Ile), prolina (P o Pro), fenilalanina (F o Phe), tirosina (Y o Tyr), triptófano (W o Trp), lisina (K o Lys), arginina (R o Arg), histidina (H o His), ácido aspártico (D o Asp), ácido glutámico (E o Glu), asparagina (N o Asn), glutamina (Q o Gln), cisteína (C o Cys), metionina (M o Met), serina (S o Ser) y treonina (T o Thr). Cuando un residuo puede ser ácido aspártico o asparagina, se pueden usar los símbolos Asx o B. Cuando un residuo puede ser cualquier aminoácido, se pueden usar los símbolos Xaa o X. Cuando un residuo puede ser ácido glutámico o glutamina, se pueden usar los símbolos Glx o Z. Las referencias a ácido aspártico incluyen aspartato, y ácido glutámico incluye glutamato, a menos que el contexto especifique lo contrario.

- 10 Como se usa en la presente, la numeración de secuencias de polipéptidos y las definiciones de CDR y FR se definen de acuerdo con el sistema de numeración de EU y/o IMGT, como se indica en contexto. Un residuo de aminoácidos “**correspondiente**” entre una primera y segunda secuencia de polipéptidos es un residuo de aminoácidos en una primera afinidad de secuencia que comparte la misma posición de acuerdo con el sistema de numeración de EU y/o IMGT, como se indica en contexto, con un residuo de aminoácidos en una segunda secuencia, mientras que el residuo de aminoácidos en la segunda secuencia puede ser diferente en identidad de la primera. Adecuadamente, los residuos correspondientes compartirán el mismo número (y letra) si el marco y las CDR tienen la misma longitud de acuerdo con la definición de EU o IMGT. La alineación se puede lograr manualmente o mediante el uso, por ejemplo, de un algoritmo informático conocido para la alineación de secuencias tales como NCBI BLAST v2.0 (BLASTP o BLASTN) mediante el uso de ajustes estándar.

- En la presente, las referencias a un “epítipo” se refieren a la porción de la diana a la que se fija específicamente el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este. Los epítipos también se pueden denominar “**determinantes antigénicos**”. Un anticuerpo se fija “**específicamente al mismo epítipo**” que otro anticuerpo cuando ambos reconocen epítipos idénticos o que se superponen estéricamente. Los métodos usados comúnmente para determinar si dos anticuerpos se fijan a epítipos idénticos o que se superponen son ensayos de competencia, que se pueden configurar en una cantidad de formatos diferentes (por ejemplo, placas de cavidades con el uso de etiquetas radioactivas o de enzimas, o citometría de flujo en células que expresan antígenos) mediante el uso de antígeno etiquetado o

anticuerpo etiquetado. Un anticuerpo se fija **“al mismo epítopo”** que otro anticuerpo cuando ambos reconocen epítopos idénticos (es decir, todos los puntos de contacto entre el antígeno y el anticuerpo son los mismos).

Los epítopos encontrados en dianas de proteínas pueden definirse como **“epítopos lineales”** o **“epítopos conformacionales”**. Los epítopos lineales se forman mediante una secuencia continua de aminoácidos en un antígeno de proteína. Los epítopos conformacionales se forman de aminoácidos que son discontinuos en la secuencia de proteína, pero que se unen al plegar la proteína en su estructura tridimensional.

El término **“vector”**, como se usa en la presente, se refiere a una molécula de ácido nucleico que puede transportar otro ácido nucleico al cual se ligó. Un tipo de vector es un **“plásmido”**, que se refiere a un bucle de ADN bicatenario circular al cual se pueden ligar segmentos adicionales de ADN. Otro tipo de vector es un vector viral, en donde se pueden ligar segmentos adicionales de ADN al genoma viral. Ciertos vectores son capaces de realizar una replicación autónoma en una célula huésped en la que se introducen (por ejemplo, vectores bacterianos que tienen un origen de replicación bacteriano y vectores episomales de mamíferos y levadura). Otros vectores (por ejemplo, vectores no episomales de mamíferos) se pueden integrar al genoma de una célula huésped tras la introducción en la célula huésped y, por lo tanto, se replican junto con el genoma huésped. Además, ciertos vectores son capaces de dirigir la expresión de los genes a los que están operativamente ligados. Estos vectores se denominan en la presente **“vectores de expresión recombinante”** (o simplemente **“vectores de expresión”**). En general, los vectores de expresión de utilidad en técnicas de ADN recombinantes están a menudo en la forma de plásmidos. En la presente memoria descriptiva, “plásmido” y “vector” se pueden usar indistintamente ya que el plásmido es la forma más comúnmente usada de vector. Sin embargo, la invención pretende incluir otras formas de vectores de expresión, tales como vectores virales (por ejemplo, retrovirus defectuosos de replicación, adenovirus y virus adenoasociados), que ofrecen funciones equivalentes, y también bacteriófagos y sistemas de fagémidos. La expresión **“célula huésped recombinante”** (o simplemente **“célula huésped”**), como se usa en la presente, se refiere a una célula en la que se introdujo un vector de expresión recombinante. Dichas expresiones pretenden referirse no solo a la célula del sujeto particular sino a la progenie de dicha célula, por ejemplo, cuando dicha progenie se emplea para elaborar una línea celular o banco de

células que luego opcionalmente se almacena, proporciona, vende, transfiere o emplea para fabricar un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se describe en la presente.

Las referencias a “**sujeto**”, “**paciente**” o “**individuo**” se refieren a un sujeto, en particular, un sujeto mamífero, que se debe tratar. Los sujetos mamíferos incluyen seres humanos, primates no humanos, animales de granja (tales como vacas), animales de deporte o mascotas, tales como perros, gatos, cobayas, conejos, ratas o ratones. En alguna forma de realización, el sujeto es un ser humano. En formas de realización alternativas, el sujeto es un mamífero no humano, tal como un ratón.

10 La expresión “**cantidad suficiente**” significa una cantidad suficiente para producir un efecto deseado. La expresión “**cantidad terapéuticamente eficaz**” es una cantidad que es eficaz para mejorar un síntoma de una enfermedad o un trastorno. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser una “**cantidad profilácticamente eficaz**” ya que profilaxis puede considerarse tratamiento.

15 Una enfermedad o un trastorno se “**mejora**” si disminuye la gravedad de un signo o síntoma de la enfermedad o el trastorno, la frecuencia con la que dicho signo o síntoma es experimentado por un sujeto, o ambos (en comparación con un punto temporal más temprano, por ejemplo, antes de la administración de cualquier anticuerpo).

Como se usa en la presente, “**tratar una enfermedad o un trastorno**” significa reducir la frecuencia y/o gravedad de al menos un signo o síntoma de la enfermedad o el trastorno experimentado por un sujeto (en comparación con un punto temporal más temprano, por ejemplo, antes de la administración de cualquier anticuerpo).

20 “**Cáncer**”, como se usa en la presente, se refiere al crecimiento o división anormal de células. En general, el crecimiento y/o la expectativa de vida de una célula cancerosa excede, y no está coordinada con, los de las células normales y el tejido alrededor de estas. Los tipos de cáncer pueden ser benignos, premalignos o malignos. El cáncer se genera en diversas células y tejidos, incluso la cavidad oral (por ejemplo, boca, lengua, faringe, etc.), sistema digestivo (por ejemplo, esófago, estómago, intestino delgado, colon, recto, hígado, vías biliares, vesícula biliar, páncreas, etc.), sistema respiratorio (por ejemplo, laringe, pulmón, bronquios, etc.), huesos, articulaciones, piel (por ejemplo, células basales, células escamosas, meningioma, etc.), mama, sistema genital (por ejemplo, útero, ovario, próstata, testículos,

etc.), sistema urinario (por ejemplo, vejiga, riñón, uretra, etc.), ojo, sistema nervioso (por ejemplo, cerebro, etc.), sistema endocrino (por ejemplo, tiroides, etc.), y sistema hematopoyético (por ejemplo, linfoma, mieloma, leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, etc.).

- 5 Como se usa en la presente, la expresión “**alrededor de**” cuando se usa en la presente incluye hasta 10 % más inclusive y hasta 10 % menos inclusive del valor especificado, adecuadamente hasta 5 % más inclusive y hasta 5 % menos inclusive del valor especificado, especialmente el valor especificado. El término “entre” incluye los valores de los límites especificados.

10 **Anticuerpos y fragmentos de fijación al antígeno de estos**

Se proporcionan en la presente anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos que pueden fijarse específicamente a la cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T $\gamma\delta$ (TCR). La invención se refiere al uso de dichos anticuerpos como medicamentos para la administración a un sujeto que se debe tratar.

- 15 En una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este es un scFv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, dominio variable (por ejemplo, VH o VL), diacuerpo, minicuerpo o anticuerpo monoclonal. En una forma de realización adicional, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este es un scFv.

- Los anticuerpos de la invención pueden ser de cualquier clase, por ejemplo, IgG, IgA, IgM, 20 IgE, IgD o isotipos de estos, y pueden comprender una cadena liviana kappa o lambda. En una forma de realización, el anticuerpo es un anticuerpo IgG, por ejemplo, al menos uno de los isotipos IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. En una forma de realización adicional, el anticuerpo puede estar en un formato, tal como un formato IgG, que fue modificado para otorgar propiedades deseadas, tales como tener el Fc mutado para reducir la función efectora, 25 extender la semivida, alterar ADCC, o mejorar la estabilidad de la bisagra. Tales modificaciones son bien conocidas en la técnica.

- En una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este es humano. Por lo tanto, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este puede derivarse de una secuencia de inmunoglobulina (Ig) humana. La CDR, región de marco y/o 30 región constante del anticuerpo (o fragmento de fijación al antígeno de este) puede derivarse de una secuencia de Ig humana, en particular una secuencia de IgG humana. La CDR, región

de marco y/o región constante del anticuerpo puede ser sustancialmente idéntica para una secuencia de Ig humana, en particular una secuencia de IgG humana. Una ventaja del uso de anticuerpos humanos es que no son inmunogénicos o tienen baja inmunogenicidad en seres humanos.

- 5 Un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este también puede ser quimérico, por ejemplo, un anticuerpo quimérico ratón-humano.

Alternativamente, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este se deriva de una especie no humana, tal como un ratón. Tales anticuerpos no humanos pueden modificarse para aumentar su similitud a variantes de anticuerpos producidas naturalmente en seres humanos, por lo que el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este puede estar parcial o completamente humanizado. Por lo tanto, en una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este está humanizado.

Resumen de anticuerpos específicos proporcionados en la presente

- 15 A continuación se proporciona un resumen de algunas de las moléculas específicas de fijación al antígeno (es decir, anticuerpos) proporcionadas por la presente invención, con identificación de la SEQ ID NO. asignada en el listado de secuencias adjunto. Las variantes de fijación al antígeno, los derivados y los fragmentos de estas también se proporcionan como parte de la presente invención. Las secuencias se proporcionan en el listado de secuencias adjunto y las Figuras adjuntas. En caso de cualquier discrepancia entre las secuencias en el listado y las de las Figuras 45 a 48, prevalecerán las secuencias de las Figuras.

Tabla 1. Resumen de anticuerpos derivados de ADT1-4 (cadena pesada) y las SEQ ID NO relacionadas

Anticuerpo	VH	HFR1	VHCDR1	HFR2	VHCDR2	HFR3	VHCDR3	HFR4
ADT1-4 parental	1	170	51	172	53	173	54	174
ADT1-4-105	2	170	51	172	53	173	55	174
ADT1-4-107	3	170	51	172	53	173	56	174
ADT1-4-110	4	170	51	172	53	173	57	174
ADT1-4-112	5	170	51	172	53	173	58	174
ADT1-4-117	6	170	51	172	53	173	59	174
ADT1-4-19	7	170	51	172	53	173	60	174

ADT1-4-21	8	170	52	172	53	173	61	174
ADT1-4-31	9	170	51	172	53	173	62	174
ADT1-4-139	10	170	51	172	53	173	63	174
ADT1-4-4	11	170	51	172	53	173	64	174
ADT1-4-143	12	171	51	172	53	173	65	174
ADT1-4-53	13	170	52	172	53	173	66	174
ADT1-4-173	14	170	51	172	53	173	67	174
ADT1-4-2	15	170	51	172	53	173	68	174
ADT1-4-8	16	170	51	172	53	173	69	174
ADT1-4-82	17	170	51	172	53	173	70	174
ADT1-4-83	18	170	51	172	53	173	71	174
ADT1-4-3	19	170	51	172	53	173	72	174
ADT1-4-84	20	170	51	172	53	173	73	174
ADT1-4-86	21	170	52	172	53	173	74	174
ADT1-4-95	22	170	51	172	53	173	75	174
ADT1-4-1	23	170	51	172	53	173	76	174
ADT1-4-6	24	170	51	172	53	173	77	174
ADT1-4-138	25	170	51	172	53	173	78	174

Tabla 2. Resumen de anticuerpos derivados de ADT1-4 (cadena liviana) y las SEQ ID NO relacionadas

Anticuerpo	VL	LFR1	VLCDR1	LFR2	VLCDR2	LFR3	VLCDR3	LFR4
ADT1-4 parental	26	175	79	176	80	178	81	179
ADT1-4-105	27	175	79	176	80	177	82	179
ADT1-4-107	28	175	79	176	80	177	83	179
ADT1-4-110	29	175	79	176	80	177	84	180
ADT1-4-112	30	175	79	176	80	177	85	179
ADT1-4-117	31	175	79	176	80	177	86	179
ADT1-4-19	32	175	79	176	80	177	87	179
ADT1-4-21	33	175	79	176	80	177	88	179

ADT1-4-31	34	175	79	176	80	177	89	179
ADT1-4-139	35	175	79	176	80	177	90	179
ADT1-4-4	36	175	79	176	80	177	91	179
ADT1-4-143	37	175	79	176	80	177	92	181
ADT1-4-53	38	175	79	176	80	177	93	179
ADT1-4-173	39	175	79	176	80	177	94	179
ADT1-4-2	40	175	79	176	80	177	95	179
ADT1-4-8	41	175	79	176	80	177	96	179
ADT1-4-82	42	175	79	176	80	177	97	179
ADT1-4-83	43	175	79	176	80	177	98	179
ADT1-4-3	44	175	79	176	80	177	99	179
ADT1-4-84	45	175	79	176	80	177	100	179
ADT1-4-86	46	175	79	176	80	177	101	179
ADT1-4-95	47	175	79	176	80	177	102	182
ADT1-4-1	48	175	79	176	80	177	103	179
ADT1-4-6	49	175	79	176	80	177	104	179
ADT1-4-138	50	175	79	176	80	178	105	179

Tabla 3. Resumen de anticuerpos derivados de ADT1-7 (cadena pesada) y las SEQ ID NO relacionadas

Anticuerpo	VH	HFR1	VHCDR1	HFR2	VHCDR2	HFR3	VHCDR3	HFR4
ADT1-4 parental	106	189	130	190	131	191	132	192
ADT1-7-10	107	189	130	190	131	191	133	192
ADT1-7-15	108	189	130	190	131	191	134	192
ADT1-7-17	109	189	130	190	131	191	135	192
ADT1-7-18	110	189	130	190	131	191	136	192
ADT1-7-19	111	189	130	190	131	191	137	192
ADT1-7-20	112	189	130	190	131	191	138	192
ADT1-7-22	113	189	130	190	131	191	139	192

ADT1-7-23	114	189	130	190	131	191	140	192
ADT1-7-42	115	189	130	190	131	191	141	192
ADT1-7-3	116	189	130	190	131	191	142	192
ADT1-7-61	117	189	130	190	131	191	143	192

Tabla 4. Resumen de anticuerpos derivados de ADT1-7 (cadena liviana) y las SEQ ID NO relacionadas

Anticuerpo	VL	LFR1	VLCDR1	LFR2	VLCDR2	LFR3	VLCDR3	LFR4
ADT1-7 parental	118	193	144	195	145	196	146	197
ADT1-7-10	119	193	144	195	145	196	147	197
ADT1-7-15	120	193	144	195	145	196	148	197
ADT1-7-17	121	193	144	195	145	196	149	197
ADT1-7-18	122	194	144	195	145	196	150	197
ADT1-7-19	123	193	144	195	145	196	151	197
ADT1-7-20	124	193	144	195	145	196	152	197
ADT1-7-22	125	193	144	195	145	196	153	197
ADT1-7-23	126	193	144	195	145	196	154	197
ADT1-7-42	127	193	144	195	145	196	155	197
ADT1-7-3	128	193	144	195	145	196	156	197
ADT1-7-61	129	193	144	195	145	196	157	197

5 Tabla 5. Resumen de otros anticuerpos parentales y las SEQ ID NO relacionadas

Anticuerpo parental	VH	VL
C08	273	282
B07	274	283
C05	275	284
E04	276	285
F07	277	286

G06	278	287
G09	279	288
B09	280	289
G10	281	290
E01	312	313

Anticuerpos derivados de ADT1-4- y ADT1-7

La presente invención proporciona anticuerpos derivados del anticuerpo ADT1-4 parental (que tiene una secuencia de región pesada variable de acuerdo con SEQ ID NO: 1 y una secuencia de región liviana variable light de acuerdo con SEQ ID NO: 26), y anticuerpos derivados del anticuerpo ADT1-7 parental (que tiene una secuencia de región pesada variable de acuerdo con SEQ ID NO: 106 y una secuencia de región liviana variable de acuerdo con SEQ ID No: 118). ADT1-4 también se denomina en la presente G04, y ADT1-4 y G04 se usan indistintamente. ADT1-7 también se denomina en la presente E07, y ADT1-7 y E07 se usa indistintamente.

En algunas formas de realización, la invención proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-Vδ1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende o consiste en una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 55 a 78 y 133 a 143; y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 82 a 105 y 147 a 157. Ciertas sustituciones de aminoácidos se pueden realizar para proporcionar uno o más anticuerpos variantes como se describe en la presente.

En algunas formas de realización, la invención proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1

(anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende:

una VHCDR1 que comprende o consiste en una secuencia de secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 51, 52 y 130.

una VHCDR2 que comprende o consiste en una secuencia de secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 53 y 131; y

una VHCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 55 a 78 y 133 a 143; y

una región variable de cadena liviana que comprende:

una VLCDR1 que comprende o consiste en una secuencia de secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 79 y 144;

una VLCDR2 que comprende o consiste en una secuencia de secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 80 y 145; y

una VLCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 81 y 146.

al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 82 a 105 y 147 a 157.

Ciertas sustituciones de aminoácidos se pueden realizar para proporcionar uno o más anticuerpos variantes como se describe en la presente.

- 5 En algunas formas de realización, la invención proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:
- una región variable de cadena pesada que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al
- 10 menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2 a 25 y 107 a 117; y/o
- una región variable de cadena liviana que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al
- 15 menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 27 a 50 y 119 a 129.

Anticuerpos derivados de ADT1-4

- La presente invención proporciona anticuerpos derivados del anticuerpo ADT1-4 parental (que tiene una secuencia de región pesada variable de acuerdo con SEQ ID NO: 1 y una secuencia
- 20 de región liviana variable light de acuerdo con SEQ ID NO: 26), por ejemplo, como se establece a continuación. ADT1-4 también se denomina en la presente G04, y ADT1-4 y G04 se usan indistintamente.

Anticuerpos que comprenden secuencias de CDR particulares derivadas de ADT1-4

- Los anticuerpos proporcionados en la presente incluyen los siguientes anticuerpos que tienen
- 25 secuencias particulares derivadas de ADT1-4.

- Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 55 a
- 30 78; y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID

NO: 82 a 105. Ciertas sustituciones de aminoácidos se pueden realizar para proporcionar uno o más anticuerpos variantes como se describe en la presente.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 55 a 77; y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 82 a 104. Ciertas sustituciones de aminoácidos se pueden realizar para proporcionar uno o más anticuerpos variantes como se describe en la presente.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 58, 60, 61, 62, 65, 66, 68, 74, 76 y 77; y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 85, 87, 88, 89, 92, 93, 95, 101, 103 y 104. Ciertas sustituciones de aminoácidos se pueden realizar para proporcionar uno o más anticuerpos variantes como se describe en la presente.

También se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende:

una VHCDR1 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 51 y 52;

una VHCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53; y

una VHCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 55 a 78; y

una región variable de cadena liviana que comprende:

una VLCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79;

una VLCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80; y

una VLCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 82 a 105.

Ciertas sustituciones de aminoácidos se pueden realizar para proporcionar uno o más anticuerpos variantes como se describe en la presente.

- 5 También se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende:

una VHCDR1 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 51 y 52;

- 10 una VHCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53; y

una VHCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 55 a 77; y

una región variable de cadena liviana que comprende:

- 15 una VLCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79;
una VLCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80; y
una VLCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 82 a 104.

Ciertas sustituciones de aminoácidos se pueden realizar para proporcionar uno o más anticuerpos variantes como se describe en la presente.

- 20 También se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende:

una VHCDR1 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 51 y 52;

- 25 una VHCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53; y

una VHCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 58, 60, 61, 62, 65, 66, 68, 74, 76 y 77; y

- 30 una región variable de cadena liviana que comprende:

una VLCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79;

una VLCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80; y una VLCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 85, 87, 88, 89, 92, 93, 95, 101, 103 y 104.

Ciertas sustituciones de aminoácidos se pueden realizar para proporcionar uno o más anticuerpos variantes como se describe en la presente.

También se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende

- a) una VHCDR1, una VHCDR2 y una a VHCDR3 que comprende o consiste en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 55, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 82, respectivamente;
- b) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 56, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 83, respectivamente;
- c) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprende o consiste en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 57, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprende o consiste en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 84, respectivamente;
- d) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 58, respectivamente, y una VLCDR1, a VLCDR2 and a VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 85, respectivamente;
- e) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 59, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 86, respectivamente;
- f) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 60, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprende o consiste en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 87, respectivamente;

- g) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 52, 53 y 61, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 88, respectivamente;
- 5 h) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 62, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 89, respectivamente;
- 10 i) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 63, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 90, respectivamente;
- 15 j) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 64, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 91, respectivamente;
- 20 k) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 65, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 92, respectivamente;
- 25 l) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 52, 53 y 66, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 93, respectivamente;
- 30 m) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 67, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 94, respectivamente;
- n) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 68, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de

SEQ ID NO: 79, 80 y 95, respectivamente;

o) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 69, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de
5 SEQ ID NO: 79, 80 y 96, respectivamente;

p) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 70, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de
10 SEQ ID NO: 79, 80 y 97, respectivamente;

q) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 71, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de
15 SEQ ID NO: 79, 80 y 98, respectivamente;

r) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 72, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de
20 SEQ ID NO: 79, 80 y 99, respectivamente;

s) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 73, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de
25 SEQ ID NO: 79, 80 y 100, respectivamente;

t) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 52, 53 y 74, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de
30 SEQ ID NO: 79, 80 y 101, respectivamente;

u) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 75, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de
SEQ ID NO: 79, 80 y 102, respectivamente;

v) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 76, respectivamente, y una VLCDR1, una

VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 103, respectivamente;

w) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 77, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 104, respectivamente; o;

x) una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 78, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 105, respectivamente.

Los anticuerpos anti-V δ 1 o fragmentos de fijación al antígeno de estos pueden comprender una secuencia variable de cadena liviana kappa (o comprende una cadena liviana variable que deriva de la secuencia variables de cadena liviana kappa), en donde el residuo en la posición 74 de la secuencia variable de cadena liviana kappa de acuerdo con el sistema de numeración de IMGT no es serina, por ejemplo, un residuo que no es de la línea germinal humana y/o un residuo no polar en la posición 74, por ejemplo, el residuo en la posición 74 es un residuo de leucina.

A continuación se proporcionan formas de realización adicionales.

ADT1-4-105 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-105 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos

99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-105, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al

menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos
 5 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al
 10 menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de
 15 aminoácidos de SEQ ID NO: 82.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2
 20 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que
 25 comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

30 una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-105, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 55 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 82, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-107 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-107 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al

menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 83. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 83. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 83.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-107, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 83, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos

- 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56; y/o
- 10 una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 83.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

- 25 una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56; y/o
- 30 una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y

una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 83.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

- 5 una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56; y

- 10 una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 83.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-107, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

- 15 una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una
- 20 VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 56 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

- una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de
- 25 SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 83, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

- Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin
- 30 sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-110 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-110 y fragmentos y variantes de este.

- Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 57 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 84. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 57 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 84. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 57 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 84.
- Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-110, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 57, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 84, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las

sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 57; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 84.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2

que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 57; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 84.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 57; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 84.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-110, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 57 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una

VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 84, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-112 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-112 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 58 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 58 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 58 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes

derivados de ADT1-4-112, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 58, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de

5 cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

- 10 una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos
- 15 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 58; y/o
- 20

- una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de
- 25 SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3
- 30 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85; y/o

al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

- 5 una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 58; y/o
- 10 una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85.
- 15 En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:
una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos
- 20 de SEQ ID NO: 58; y
una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85.
- 25 Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-112, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:
una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2
- 30 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una

VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 58 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 85, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-117 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-117 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 59 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 59 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86. En una forma

de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 59 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-117, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 59, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 59; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de

SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3
 5 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno
 10 o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de
 15 aminoácidos de SEQ ID NO: 59; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos
 20 de SEQ ID NO: 86.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos
 25 de SEQ ID NO: 59; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos
 30 de SEQ ID NO: 86.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes

derivados de ADT1-4-117, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 59 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 86, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-19 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-19 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 87. En una

forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 87. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 87.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-19, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 87, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %,

al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 87.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 87.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos

de SEQ ID NO: 60; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 87.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-19, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 60 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 87, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-21 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-21 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, o al menos 100 % de la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 60.

al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 88. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 88. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 88.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-21, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 88, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos

de SEQ ID NO: 52, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3
 5 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos
 10 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3
 15 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 88.
 20

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52, una VHCDR2
 25 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que
 30 comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos

de SEQ ID NO: 88.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la
 5 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52, una VHCDR2 que comprende la secuencia de
 aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos
 de SEQ ID NO: 61; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la
 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de
 10 aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos
 de SEQ ID NO: 88.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes
 derivados de ADT1-4-21, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al
 antígeno o variante de este que comprende:

15 una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la
 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52 que comprende opcionalmente 1 o 2
 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de
 SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una
 VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 61 que comprende
 20 opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la
 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2
 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de
 SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una
 25 VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 88, que comprende
 opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden
 ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin
 sustituciones de aminoácidos).

30 ADT1-4-31 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-31 y fragmentos y variantes de

este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 89. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 89. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 89.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-31, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 89, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

- una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62; y/o
- una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 89.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

- una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:

53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que
5 comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 89.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

10 una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la
15 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 89.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-31, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al
20 antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una
25 VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 62 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de
30 SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 89, que comprende

opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

5 ADT1-4-139 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-139 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que
 10 comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que
 15 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 90. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o
 20 variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 90. En una forma
 25 de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 90.

30 Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-139, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación

al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 90, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO: 90.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

5 una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63; y/o

10 una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 90.

15 En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63; y

20 una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 90.

25 Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-139, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

30 una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 63 que comprende

opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 90, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-4 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-4 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 91. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 91. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de

este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 91.

- 5 Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-4, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de
- 10 cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 91, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

- 15 una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos
- 20 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64; y/o
- 25

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos

30

80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 91.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

10 una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64; y/o

15 una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 91.

20 En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64; y

25 una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 91.

30 Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-4, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al

antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de
 5 SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 64 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2
 10 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 91, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

15 Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-143 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-143 y fragmentos y variantes de este.

20 Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de
 25 SEQ ID NO: 65 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 92. En una
 30 forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o

variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 92. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 92.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-143, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 92, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO: 65; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 92.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 92.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 92.

- 5 Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-143, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 65 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

- 10 una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 92, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-53 y fragmentos y variantes de este

- 25 Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-53 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de

SEQ ID NO: 66 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 93. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 66 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 93. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 66 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 93.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-53, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 66, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 93, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos

80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 66; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 93.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 66; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 93.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 66; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 93.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-53, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 66 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 93, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-173 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-173 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 94. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 94. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 94.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-173, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 94, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al

antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 94.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO: 67; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 94.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 94.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-173, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 67 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 94, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden

ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-2 y fragmentos y variantes de este

- 5 Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-2 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos
 10 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al
 15 menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una
 20 VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de
 25 este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes
 30 derivados de ADT1-4-2, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que

comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-2, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

10 ADT1-4-8 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-8 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que

15 comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que

20 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 96. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o

25 variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 96. En una forma

30 de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 96.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-8, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 96, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al

menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 96.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 96.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 96.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-8, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una
 5 VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 69 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de
 10 SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 96, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin
 15 sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-82 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-82 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de
 20 fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de
 25 SEQ ID NO: 70 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97. En una
 30 forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una

- VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97.
- Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-82, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.
- En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:
- una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-82, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 70 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 97, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-83 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-83 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que

comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 98. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 98. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 98.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-83, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 98, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al

menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 98.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 98.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno

o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 98.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-83, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 71 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 98, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-3 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-3 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de

fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 99. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 99. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 99.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-3, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 99, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 99.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 99.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 99.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-3, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 72 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 99, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-84 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-84 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 100. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 100. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 100.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-84, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73,

que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 100, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

- 5 En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3
15 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos
20 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3
25 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 100.
30

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno

o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 100.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 100.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-84, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 73 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 100, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-86 y fragmentos y variantes de este

10 Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-86 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 101. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 101. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 y/o una región variable de cadena

liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 101.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-86, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 101, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %

o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 101.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 101.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 101.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-86, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 52 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 74 que comprende

opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 101, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-95 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-95 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 102. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad

con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 102. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 102.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-95, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 102, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos

70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 102.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 102.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 102.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-95, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 75 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 102, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-1 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-1 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al

- menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103.
- Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-1, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.
- En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:
- una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %

o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de

5 aminoácidos de SEQ ID NO: 76; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de

10 SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3

15 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

20 una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76; y/o

25 una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103.

30 En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76; y

- 5 una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-1, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

- 10 una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 76 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

- 15 una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 103, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

- 20 Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-6 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-6 y fragmentos y variantes de este.

- 30 Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que

comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 77 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 77 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 77 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-6, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 77, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al

menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 77; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 77; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos

90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104.

- 5 En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos

- 10 de SEQ ID NO: 77; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104.

- 15 Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-6, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 77 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

- 20 una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 104, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin

sustituciones de aminoácidos).

ADT1-4-138 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-4-138 y fragmentos y variantes de este.

- 5 Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 78 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 105. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 78 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 105. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 78 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 105.

- Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-138, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 78, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de

cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 105, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

- 5 una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 78; y/o

- una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 105.

- 30 En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 78; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 105.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 78; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 105.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-4-138, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 78 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79 que comprende opcionalmente 1 o 2

sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 105, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

Anticuerpos que comprenden regiones variables de cadena pesada y/o liviana derivados de ADT1-4

10 En la presente, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2 a 25; y/o

15 una región variable de la cadena liviana que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 27 a 50.

También se proporciona en la presente un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

25 una región variable de la cadena pesada que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2 a 25, en donde la secuencia de la región variable de la cadena pesada no es SEQ ID NO:1; y/o

30 una región variable de la cadena liviana que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al

menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 27 a 50, en donde la secuencia de la región variable de la cadena liviana no es SEQ ID NO: 26.

- 5 También se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2 a 24; y/o

- 10 una región variable de la cadena liviana que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 27 a 49.

También se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

- 20 una región variable de la cadena pesada que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 5, 7, 8, 9, 12, 13, 15, 21, 23 y 24; y/o

- 25 una región variable de la cadena liviana que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 30, 32, 33, 34, 37, 38, 40, 46, 48 y 49.

- 30 En la presente, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende o consiste en una secuencia que

tiene al menos 90 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2 a 25; y/o

una región variable de la cadena liviana que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 90 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en

5 SEQ ID NO: 27 a 50.

También se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 90 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en

10 SEQ ID NO: 2 a 24; y/o

una región variable de la cadena liviana que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 90 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 27 a 49.

15 También se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 90 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 5, 7, 8, 9, 12, 13, 15, 21, 23 y 24; y/o

20 una región variable de la cadena liviana que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 90 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 30, 32, 33, 34, 37, 38, 40, 46, 48 y 49.

Opcionalmente, los anticuerpos anteriores retienen las secuencias de CDR correspondientes de modo que cualquier variabilidad en las secuencias de VH y VL tiene lugar en las regiones de marco.

25 En la presente, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende o consiste en una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2 a 25; y/o

30 una región variable de la cadena liviana que comprende o consiste en una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 27 a 50.

También se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de

fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende o consiste en una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2 a 24; y/o

5 una región variable de la cadena liviana que comprende o consiste en una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 27 a 49.

También se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende o consiste en una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 5, 7, 8, 9, 12, 13, 15, 21, 23 y 24; y/o

10 una región variable de la cadena liviana que comprende o consiste en una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 30, 32, 33, 34, 37, 38, 40, 46, 48 y 49.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

a) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos
15 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27;

b) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos
20 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28;

c) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos
25 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29;

d) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos
90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30;

30 e) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 y una VL que comprende o

consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31;

f) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y una VL que comprende o
5 consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32;

g) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y una VL que comprende o
10 consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 33;

h) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una VL que comprende o
consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 34;

i) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y una VL que comprende o
15 consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35;

j) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 y una VL que comprende o
20 consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36;

k) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 y una VL que comprende o
25 consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37;

l) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 y una VL que comprende o
30 consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38;

m) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos

90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39;

n) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40;

o) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41;

p) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42;

q) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43;

r) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44;

s) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45;

t) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46;

- u) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47;
- 5 v) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 48;
- w) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos
10 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49; o
- x) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos
15 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50.
- Opcionalmente, los anticuerpos anteriores retienen las secuencias de CDR correspondientes de modo que cualquier variabilidad en las secuencias de VH y VL tiene lugar en las regiones de marco.
- 20 En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:
- a) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de
25 aminoácidos de SEQ ID NO: 27;
- b) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28;
- 30 c) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 y una VL que comprende o

consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29;

d) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 y una VL que comprende o
5 consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30;

e) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 y una VL que comprende o
10 consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31;

f) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y una VL que comprende o
consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32;

15 g) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y una VL que comprende o
consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 33;

h) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos
20 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una VL que comprende o
consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 34;

i) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y una VL que comprende o
25 consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35;

j) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 y una VL que comprende o
30 consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36;

k) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos

96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37;

l) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38;

m) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39;

n) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40;

o) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41;

p) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42;

q) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43;

r) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44;

- s) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45;
- 5 t) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46;
- u) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos
10 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47;
- v) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos
15 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 48;
- w) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos
20 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49; o
- x) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 96 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50.
- 25 Opcionalmente, los anticuerpos anteriores retienen las secuencias de CDR correspondientes de modo que cualquier variabilidad en las secuencias de VH y VL tiene lugar en las regiones de marco.
- En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:
- 30 a) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27 que

comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;

b) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;

c) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;

d) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;

e) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;

f) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;

g) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 33 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;

h) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 34 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;

i) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10

y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;

j) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;

k) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;

l) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;

m) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;

n) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;

o) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;

p) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;

- q) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;
- 5 r) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;
- s) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20
10 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;
- t) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21
15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;
- u) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22
20 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;
- v) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 48 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;
- 25 w) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables; o
- x) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25
30 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos

en ambas regiones variables,

opcionalmente en donde la secuencia de VH no es SEQ ID NO: 1 y/o la secuencia de VL no es SEQ ID NO: 26.

“En ambas regiones variables” significa colectivamente que el anticuerpo puede comprender hasta la cantidad especificada de sustituciones en total cuando se considera tanto la región variable de las cadenas pesada y liviana. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras. En algunas formas de realización, las sustituciones (si están presentes) pueden producirse en cualquier lugar en las secuencias de región variable. En formas de realización preferidas, las sustituciones (si están presentes) pueden estar limitadas a las regiones de marco. En consecuencia, en algunas formas de realización, las sustituciones de aminoácidos no se producen en una secuencia de CDR.

Opcionalmente, los anticuerpos anteriores retienen las secuencias de CDR correspondientes de modo que cualquier variabilidad en las secuencias de VH y VL tiene lugar en las regiones de marco.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

- a) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27;
- b) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28;
- c) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29;
- d) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30;
- e) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31;
- f) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32;
- g) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 33;
- h) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y

una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 34;

i) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35;

j) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11
5 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36;

k) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37;

l) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38;

10 m) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39;

n) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40;

o) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16
15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41;

p) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42;

q) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43;

20 r) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44;

s) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45;

t) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21
25 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46;

u) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47;

v) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 48;

30 w) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49; o

x) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50.

Ciertas sustituciones de aminoácidos se pueden realizar para proporcionar uno o más anticuerpos variantes como se describe en la presente.

- 5 En cualquier forma de realización relacionada con secuencias de VH y/o de VL definidas (por ejemplo, cualquier secuencia de VH y/o de VL definida como que tiene cierto porcentaje de identidad y/o sustitución), preferentemente la secuencia de VH no es SEQ ID NO: 1 y la secuencia de VL no es SEQ ID NO: 26.

Otros anticuerpos derivados de ADT1-4

- 10 En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

a) una secuencia de HCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de GDSVSSKSX₁A (SEQ ID NO: 158);

- 15 b) una secuencia de HCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 53

c) una secuencia de HCDR3 que comprende o consiste en la secuencia X₂WX₃X₄X₅X₆DX₇ (SEQ ID NO: 162), en donde la secuencia de HCDR3 no es SEQ ID NO: 54;

d) una secuencia de LCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 79;

- 20 e) una secuencia de LCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 80; y

f) una secuencia de LCDR3 que comprende o consiste en la secuencia de QQX₈YX₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃T (SEQ ID NO: 166), en donde la secuencia de LCDR3 no es SEQ ID NO: 81;

- 25 y en donde cada uno de X₁ a X₁₃ es un aminoácido natural.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

a) una secuencia de HCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de GDSVSSKSX₁A (SEQ ID NO: 159);

- 30 b) una secuencia de HCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 53

c) una secuencia de HCDR3 que comprende o consiste en la secuencia de $X_2WX_3X_4X_5X_6DX_7$ (SEQ ID NO: 163), en donde la secuencia de HCDR3 no es SEQ ID NO: 54;

d) una secuencia de LCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 79;

e) una secuencia de LCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 80; y

f) una secuencia de LCDR3 que comprende o consiste en la secuencia de $QQX_8YX_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}T$ (SEQ ID NO: 167), en donde la secuencia de LCDR3 no es SEQ ID NO: 81;

y en donde: X_1 se selecciona del grupo que consiste en A y V; X_2 se selecciona del grupo que consiste en S y T; X_3 se selecciona del grupo que consiste en V, A y L; X_4 se selecciona del grupo que consiste en G, E, y D; X_5 se selecciona del grupo que consiste en Y y N; X_6 se selecciona del grupo que consiste en V, A y P; X_7 se selecciona del grupo que consiste en V, Y y R; X_8 se selecciona del grupo que consiste en K, R y G; X_9 se selecciona del grupo que consiste en S y K; X_{10} se selecciona del grupo que consiste en T, Q, A, E y D; X_{11} se selecciona del grupo que consiste en P, H y D; X_{12} se selecciona del grupo que consiste en Q, R, K, W, P, E e I; y X_{13} se selecciona del grupo que consiste en I, V y L. El anticuerpo puede comprender además una secuencia de HFR1 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 170 o 171; una secuencia de HFR2 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 172; una secuencia de HFR3 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 173; una secuencia de HFR4 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 174; una secuencia de LFR1 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 175; una secuencia de LFR2 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 176; una secuencia de LFR3 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 177 o 178; y una secuencia de LFR4 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 179, 180, 181 o 182.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

a) una secuencia de HCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de GDSVSSKSX₁A (SEQ ID NO: 160);

b) una secuencia de HCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO:

53

c) una secuencia de HCDR3 que comprende o consiste en la secuencia de $X_2WX_3X_4X_5X_6DX_7$ (SEQ ID NO: 164), en donde la secuencia de HCDR3 no es SEQ ID NO: 54;

5 d) una secuencia de LCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 79;

e) una secuencia de LCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 80; y

10 f) una secuencia de LCDR3 que comprende o consiste en la secuencia de $QQX_8YX_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}T$ (SEQ ID NO: 168), en donde la secuencia de LCDR3 no es SEQ ID NO: 81;

y en donde X_1 se selecciona del grupo que consiste en A y V; X_2 se selecciona del grupo que consiste en S y T; X_3 se selecciona del grupo que consiste en V, A y L; X_4 se selecciona del grupo que consiste en G, E, y D; X_5 se selecciona del grupo que consiste en Y y N; X_6 se selecciona del grupo que consiste en V, A y P; X_7 se selecciona del grupo que consiste en V, Y y R; X_8 se selecciona del grupo que consiste en K, R y G; X_9 se selecciona del grupo que consiste en S y K; X_{10} se selecciona del grupo que consiste en T, Q, A, E y D; X_{11} se selecciona del grupo que consiste en P y H; X_{12} se selecciona del grupo que consiste en Q, R, K, W, P, E e I; y X_{13} se selecciona del grupo que consiste en I, V y L. El anticuerpo puede comprender además una secuencia de HFR1 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 170 o 171, una secuencia de HFR2 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 172, una secuencia de HFR3 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 173, una secuencia de HFR4 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 174, una secuencia de LFR1 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 175, una secuencia de LFR2 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 176, una secuencia de LFR3 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 177 y una secuencia de LFR4 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 179, 180, 181 o 182.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

30 a) una secuencia de HCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de GDSVSSKSX₁A (SEQ ID NO: 161);

- b) una secuencia de HCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 53
- c) una secuencia de HCDR3 que comprende o consiste en la secuencia de $X_2WX_3X_4X_5X_6DX_7$ (SEQ ID NO: 165), en donde la secuencia de HCDR3 no es SEQ ID NO: 54;
- d) una secuencia de LCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 79;
- e) una secuencia de LCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 80; y
- 10 f) una secuencia de LCDR3 que comprende o consiste en la secuencia de $QQX_8YX_9X_{10}X_{11}X_{12}X_{13}T$ (SEQ ID NO: 169), en donde la secuencia de LCDR3 no es SEQ ID NO: 81;
- y en donde X_1 se selecciona del grupo que consiste en A y V; X_2 se selecciona del grupo que consiste en S y T; X_3 se selecciona del grupo que consiste en V, A y L; X_4 se selecciona del grupo que consiste en G y D; X_5 se selecciona del grupo que consiste en Y y N; X_6 se selecciona del grupo que consiste en V, A y P; X_7 se selecciona del grupo que consiste en V, Y y R; X_8 se selecciona del grupo que consiste en K y R; X_9 se selecciona del grupo que consiste en S y K; X_{10} se selecciona del grupo que consiste en T, Q, A y E; X_{11} se selecciona del grupo que consiste en P y H; X_{12} se selecciona del grupo que consiste en Q, K, W, P e I; y
- 15 X_{13} se selecciona del grupo que consiste en V y L. El anticuerpo puede comprender además una secuencia de HFR1 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 170 o 171; una secuencia de HFR2 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 172; una secuencia de HFR3 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 173; una secuencia de HFR4 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 174; una secuencia de LFR1 que comprende la
- 20 secuencia de SEQ ID NO: 175; una secuencia de LFR2 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 176; una secuencia de LFR3 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 177; y una secuencia de LFR4 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 179 o 181.

Anticuerpos derivados de ADT1-7

- La presente invención proporciona anticuerpos derivados del anticuerpo ADT1-7 parental (que
- 30 tiene una secuencia de región pesada variable de acuerdo con SEQ ID NO: 106 y una secuencia de región liviana variable light de acuerdo con SEQ ID NO: 118), por ejemplo, como

se establece a continuación. ADT1-7 también se denomina en la presente E07, y ADT1-7 y E07 se usa indistintamente.

Anticuerpos que comprenden secuencias de CDR particulares derivadas de ADT1-7

Los anticuerpos proporcionados en la presente incluyen los siguientes anticuerpos que tienen secuencias particulares derivadas de ADT1-7.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 133 a 143; y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 147 a 157. Ciertas sustituciones de aminoácidos se pueden realizar para proporcionar uno o más anticuerpos variantes como se describe en la presente.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 138, 142 y 143 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 152, 156 y 157. Ciertas sustituciones de aminoácidos se pueden realizar para proporcionar uno o más anticuerpos variantes como se describe en la presente.

También se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende:

una VHCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130; una VHCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131;

y

una VHCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 133 a 143; y

una región variable de cadena liviana que comprende:

una VLCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144;

una VLCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145;
y

una VLCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 147 a 157.

- 5 Ciertas sustituciones de aminoácidos se pueden realizar para proporcionar uno o más anticuerpos variantes como se describe en la presente.

También se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende:

- 10 una VHCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130;
una VHCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131;
y

una VHCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 138, 142 y 143; y

- 15 una región variable de cadena liviana que comprende:

una VLCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144;
una VLCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145;
y

- 20 una VLCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 152, 156 y 157.

Ciertas sustituciones de aminoácidos se pueden realizar para proporcionar uno o más anticuerpos variantes como se describe en la presente.

A continuación se proporcionan formas de realización adicionales.

ADT1-7-10 y fragmentos y variantes de este

- 25 Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-7-10 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos

- 30 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, o al menos 100 %.

al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-10, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos

de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos

de SEQ ID NO: 147.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la
 5 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende la secuencia de
 aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de
 aminoácidos de SEQ ID NO: 133; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la
 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende la secuencia de
 10 aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos
 de SEQ ID NO: 147.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes
 derivados de ADT1-7-10, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al
 antígeno o variante de este que comprende:

15 una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la
 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 que comprende opcionalmente 1 o 2
 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de
 SEQ ID NO: 131 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una
 VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 que comprende
 20 opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la
 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144 que comprende opcionalmente 1 o 2
 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de
 SEQ ID NO: 145 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una
 25 VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147 que comprende
 opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden
 ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin
 sustituciones de aminoácidos).

30 ADT1-7-15 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-7-15 y fragmentos y variantes de

este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-15, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

- una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; y/o
- una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

- una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:

131 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que
5 comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

10 una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la
15 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-15, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al
20 antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una
25 VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de
30 SEQ ID NO: 145 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148 que comprende

opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

5 ADT1-7-17 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-7-17 y fragmentos y variantes de este.

- Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que
- 10 comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que
- 15 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 149. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o
- 20 variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 149. En una
- 25 forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135 y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 149.
- 30 Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-17, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al

antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 149, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 149.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 149.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 149.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-17, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 135 que comprende

opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 149 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-7-18 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-7-18 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende a región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de

SEQ ID NO: 136 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 150. En una

forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 150. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o

variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 150.

- 5 Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-18, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de
- 10 la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 150, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

- 15 una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos
- 20 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al
- 25 menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136; y/o

- una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos
- 30 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos

80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 150.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

10 una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136; y/o

15 una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 150.

20 En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136; y

25 una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 150.

30 Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-18, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al

antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 150 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-7-19 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-7-19 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 151. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al

antígeno o variante de este que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 151. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 151.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-19, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 151, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y/o

una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 151.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y/o

una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 151.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 151.

- 5 Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-19, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

- 10 una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 151 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-7-20 y fragmentos y variantes de este

- 25 Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-7-20 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO: 138 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 152. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 152. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 152.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-20, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 152, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos

80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 152.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 152.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 152.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-20, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 152 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-7-22 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-7-22 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-22, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al

antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO: 139; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-22, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden

ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-7-23 y fragmentos y variantes de este

- 5 Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-7-23 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que
 10 tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al
 15 menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que
 20 comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación
 25 al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes
 30 derivados de ADT1-7-23, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de la cadena pesada que

comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-23, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 140 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

10 ADT1-7-42 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-7-42 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que

comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-42, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al

menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-42, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una
 5 VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 141 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de
 10 SEQ ID NO: 145 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin
 15 sustituciones de aminoácidos).

ADT1-7-3 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-7-3 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de
 20 fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de
 25 aminoácidos de SEQ ID NO: 142 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:
 30 156. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que

- comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 156. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 156.
- Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-3, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 156, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.
- En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:
- una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 156.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 156.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 156.

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-3, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 156 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

ADT1-7-61 y fragmentos y variantes de este

Ciertas formas de realización se refieren al anticuerpo ADT1-7-61 y fragmentos y variantes de este.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende

una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:

- 5 157. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 157. En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143 y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 157.
- 10
- 15

Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-61, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y/o una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 157, que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

- 20
- 25 En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al

30

menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 157.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende al menos 90 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 157.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno

o variante de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143; y

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 157.

10 Se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para proporcionar anticuerpos variantes derivados de ADT1-7-61, por ejemplo, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno o variante de este que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 130 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 131 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 157 que comprende opcionalmente 1 o 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras.

Alternativamente, los anticuerpos pueden consistir en las secuencias especificadas (con o sin sustituciones de aminoácidos).

Anticuerpos que comprenden regiones variables de las cadenas pesada y/o liviana derivados de ADT1-7

30 En la presente, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia

5 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 107 a 117; y/o

una región variable de la cadena liviana que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia

10 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 119 a 129.

También se proporciona en la presente un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 107 a 117, en donde la secuencia de la región variable de la cadena pesada no es SEQ ID NO:1; y/o 106; y/o

una región variable de la cadena liviana que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 119 a 129, en donde la secuencia de la región variable de la cadena liviana no es SEQ ID NO: 118.

25 También se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia

30 seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 112, 116 y 117; y/o

una región variable de la cadena liviana que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 124, 128 y 129.

En la presente, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 90 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 107 a 117; y/o

una región variable de la cadena liviana que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 90 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 119 a 129.

También se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 90 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 112, 116 y 117; y/o

una región variable de la cadena liviana que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 90 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 124, 128 y 129.

Opcionalmente, los anticuerpos anteriores retienen las secuencias de CDR correspondientes de modo que cualquier variabilidad en las secuencias de VH y VL tiene lugar en las regiones de marco.

En la presente, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende o consiste en una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 107 a 117; y/o

una región variable de la cadena liviana que comprende o consiste en una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 119 a 129.

También se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de

fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende o consiste en una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 112, 116 y 117; y/o

una región variable de la cadena liviana que comprende o consiste en una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 124, 128 y 129.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

a) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 107 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 119;

b) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 108 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 120;

c) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 109 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 121;

d) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 110 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 122;

e) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 111 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123;

f) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 112 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124;

g) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 113 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125;

5 h) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126;

10 i) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127;

15 j) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 116 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128; o

20 k) una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 117 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129,

opcionalmente en donde la secuencia de VH no es SEQ ID NO: 106 y/o la secuencia de VL no es SEQ ID NO: 118.

25 Opcionalmente, los anticuerpos anteriores retienen las secuencias de CDR correspondientes de modo que cualquier variabilidad en las secuencias de VH y VL tiene lugar en las regiones de marco.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

30 a) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 107 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 119 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;

- b) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 108 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 120 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;
- 5 c) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 109 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 121 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;
- d) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 110
10 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 122 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;
- e) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 111
15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;
- f) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 112
20 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;
- g) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 113
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;
- 25 h) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables;
- i) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115
30 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos

en ambas regiones variables;

j) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 116 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables; o

k) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 117 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129 que comprende opcionalmente hasta 5, hasta 4, hasta 3, hasta 2 o 1 sustitución de aminoácidos en ambas regiones variables.

10 “En ambas regiones variables” significa que, colectivamente, el anticuerpo puede comprender hasta la cantidad especificada de sustituciones en total cuando se consideran tanto la región variable de la cadena pesada como la región variable de la cadena liviana. Las sustituciones de aminoácidos pueden ser sustituciones de aminoácidos conservadoras. En algunas formas de realización, las sustituciones (si están presentes) pueden producirse en cualquier lugar en las secuencias de región variable. En formas de realización preferidas, las sustituciones (si están presentes) pueden estar limitadas a las regiones de marco. En consecuencia, en algunas formas de realización, las sustituciones de aminoácidos no se producen en una secuencia de CDR.

Opcionalmente, los anticuerpos anteriores retienen las secuencias de CDR correspondientes de modo que cualquier variabilidad en las secuencias de VH y VL se produce en las regiones de marco.

En algunas formas de realización, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

- a) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 107 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 119;
- b) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 108 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 120;
- c) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 109 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 121;
- 30 d) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 110 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 122;

- e) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 111 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123;
- f) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 112 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124;
- 5 g) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 113 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125;
- h) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126;
- i) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115
- 10 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127;
- j) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 116 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128; o
- k) una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 117 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129.

15 Ciertas sustituciones de aminoácidos se pueden realizar para proporcionar uno o más anticuerpos variantes como se describe en la presente.

En cualquier forma de realización relacionada con secuencias de VH y/o de VL definidas (por ejemplo, cualquier secuencia de VH y/o de VL definida como que tiene cierto porcentaje de identidad y/o sustitución), preferentemente la secuencia de VH no es SEQ ID NO: 106 y la

20 secuencia de VL no es SEQ ID NO: 118.

Otros anticuerpos derivados de ADT1-7

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

- a) una secuencia de HCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 130;
- 25 b) una secuencia de HCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 131;
- c) una secuencia de HCDR3 que comprende o consiste en la secuencia de X₁X₂YX₃X₄AFDI (SEQ ID NO: 183), en donde la secuencia de HCDR3 no es SEQ ID NO: 132;
- 30 d) una secuencia de LCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 144;

e) una secuencia de LCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 145; y

f) una secuencia de LCDR3 que comprende o consiste en la secuencia de QQX₅X₆X₇X₈LX₉T (SEQ ID NO: 186), en donde la secuencia de LCDR3 no es SEQ ID NO: 146;

en donde cada uno de X₁ a X₉ es un aminoácido natural.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

a) una secuencia de HCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 130;

b) una secuencia de HCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 131;

c) una secuencia de HCDR3 que comprende o consiste en la secuencia de X₁X₂YX₃X₄AFDI (SEQ ID NO: 184), en donde la secuencia de HCDR3 no es SEQ ID NO: 132;

d) una secuencia de LCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 144;

e) una secuencia de LCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 145; y

f) una secuencia de LCDR3 que comprende o consiste en la secuencia de QQX₅X₆X₇X₈LX₉T (SEQ ID NO: 187), en donde la secuencia de LCDR3 no es SEQ ID NO: 146;

en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en D, I y V; X₂ se selecciona del grupo que consiste en D y S; X₃ se selecciona del grupo que consiste en N, E, D, Q y A; X₄ se selecciona del grupo que consiste en D y E; X₅ se selecciona del grupo que consiste en T y S; X₆ se selecciona del grupo que consiste en A, G, Y y S; X₇ se selecciona del grupo que consiste en S y D; X₈ se selecciona del grupo que consiste en T, E y G; y X₉ se selecciona del grupo que consiste en L y D. El anticuerpo puede comprender además una secuencia de HFR1 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 189; una secuencia de HFR2 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 190; una secuencia de HFR3 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 191; una secuencia de HFR4 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 192; una secuencia de LFR1 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 193 y 194; una secuencia de

LFR2 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 195; una secuencia de LFR3 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 196; y una secuencia de LFR4 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 197.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de

5 TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

a) una secuencia de HCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 130;

b) una secuencia de HCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 131;

10 c) una secuencia de HCDR3 que comprende o consiste en la secuencia de X₁X₂YX₃X₄AFDI (SEQ ID NO: 185), en donde la secuencia de HCDR3 no es SEQ ID NO: 132;

d) una secuencia de LCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 144;

15 e) una secuencia de LCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 145; y

f) una secuencia de LCDR3 que comprende o consiste en la secuencia de QQX₅X₆X₇X₈LX₉T (SEQ ID NO: 188), en donde la secuencia de LCDR3 no es SEQ ID NO: 146;

20 en donde X₁ se selecciona del grupo que consiste en D y V; X₂ se selecciona del grupo que consiste en D y S; X₃ se selecciona del grupo que consiste en D, Q y A; X₄ se selecciona del grupo que consiste en D y E; X₅ es S; X₆ se selecciona del grupo que consiste en A y Y; X₇ es S; X₈ se selecciona del grupo que consiste en E y G; y X₉ se selecciona del grupo que consiste en L y D. El anticuerpo puede comprender además una secuencia de HFR1 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 189; una secuencia de HFR2 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 190; una secuencia de HFR3 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 191; una secuencia de HFR4 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 192; una secuencia de LFR1 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 193; una secuencia de LFR2 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 195; una secuencia de LFR3 que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 196; y una secuencia de LFR4 que comprende la secuencia de
30 SEQ ID NO: 197.

Anticuerpos que tienen sustituciones de secuencia

La persona del oficio de nivel medio está al tanto de que diversos aminoácidos tienen propiedades similares. Uno o más de tales aminoácidos de una sustancia pueden sustituirse a menudo por uno o más de otros de tales aminoácidos sin eliminar una actividad deseada de esa sustancia.

- 5 Por lo tanto, los aminoácidos glicina, alanina, valina, leucina e isoleucina pueden sustituirse a menudo entre sí (aminoácidos que tienen cadenas laterales alifáticas). De estas sustituciones posibles, se prefiere que la glicina y la alanina se sustituyan entre sí (ya que tienen cadenas laterales relativamente cortas) y que la valina, la leucina y la isoleucina se sustituyan entre sí (ya que tienen cadenas laterales alifáticas más grandes que son hidrófobas). Otros
- 10 aminoácidos que pueden sustituirse a menudo entre sí incluyen: fenilalanina, tirosina y triptófano (aminoácidos que tienen cadenas laterales aromáticas); lisina, arginina e histidina (aminoácidos que tienen cadenas laterales básicas); aspartato y glutamato (aminoácidos que tienen cadenas laterales ácidas); asparagina y glutamina (aminoácidos que tienen cadenas laterales de amida); y cisteína y metionina (aminoácidos que tienen cadenas laterales que
- 15 contienen azufre).

Una sustitución de aminoácidos “conservadora” es una sustitución de aminoácidos en la que un residuo de aminoácido se reemplaza por otro residuo de aminoácido de estructura química similar y que se espera que tenga poca influencia sobre la función, actividad u otras propiedades biológicas del polipéptido. Adecuadamente, tales sustituciones conservadoras

20 son sustituciones en las que un aminoácido dentro de los siguientes grupos se sustituye por otro residuo de aminoácido dentro del mismo grupo:

Grupo	Residuo de aminoácido
Alifático no polar	Glicina
	Alanina
	Valina
	Metionina
	Leucina
	Isoleucina

Aromático	Fenilalanina
	Tirosina
	Triptófano
Sin carga polar	Serina
	Treonina
	Cisteína
	Prolina
	Asparagina
	Glutamina
Cargado negativamente	Aspartato
	Glutamato
Cargado positivamente	Lisina
	Arginina
	Histidina

Adecuadamente, un residuo de aminoácido hidrófobo es un aminoácido no polar. Más adecuadamente, un residuo de aminoácido hidrófobo se selecciona de V, I, L, M, F, W o C. En algunas formas de realización, se selecciona un residuo de aminoácido hidrófobo de glicina, alanina, valina, metionina, leucina, isoleucina, fenilalanina, tirosina o triptófano.

Por lo tanto, las referencias a sustituciones de aminoácidos “conservadoras” se refieren a sustituciones de aminoácidos en las que uno o más de los aminoácidos en la secuencia del anticuerpo (por ejemplo, en las CDR o en las secuencias de VH o VL) se sustituyen por otro aminoácido en la misma clase de la manera indicada anteriormente. Se pueden preferir las sustituciones de aminoácidos conservadoras en las regiones de CDR para minimizar los efectos adversos sobre la función del anticuerpo. Sin embargo, las sustituciones de aminoácidos conservadoras también pueden producirse en las regiones de marco. Por lo tanto, en algunas formas de realización, cualquier sustitución en las CDR puede ser sustituciones conservadoras, mientras que las sustituciones en las regiones de marco pueden ser sustituciones de aminoácidos naturales por otros aminoácidos naturales.

También se pueden realizar eliminaciones o inserciones de aminoácidos, en comparación con las secuencias de aminoácidos proporcionadas para los anticuerpos descritos en la presente.

Por lo tanto, por ejemplo, se pueden eliminar los aminoácidos que no tienen un efecto sustancial sobre la actividad del polipéptido, o al menos que no eliminan tal actividad. Tales eliminaciones pueden ser ventajosas, ya que la longitud total y el peso molecular de un polipéptido pueden reducirse sin perder actividad. Esto puede permitir la reducción de la cantidad de polipéptido necesaria para un propósito particular; por ejemplo, se pueden reducir los niveles de dosis.

Los cambios de aminoácidos con respecto a las secuencias proporcionadas en la presente pueden realizarse con cualquier técnica adecuada, por ejemplo, mediante mutagénesis dirigida al sitio o síntesis en estado sólido.

Debe apreciarse que las sustituciones o inserciones de aminoácidos dentro del alcance de la presente invención pueden realizarse con el uso de aminoácidos naturales o no naturales, aunque puede que se prefieran los aminoácidos naturales. Sea que se usen aminoácidos naturales o sintéticos, puede que se prefiera la presencia exclusiva de aminoácidos L.

Se proporcionan en la presente diversas formas de realización que comprenden sustituciones de aminoácidos opcionales en las secuencias proporcionadas. Además, en una forma de realización de la invención, se proporciona un anticuerpo, o fragmento de fijación al antígeno de estos, de la invención que comprenden hasta 10, adecuadamente hasta 5 o adecuadamente hasta 2 sustituciones de aminoácidos en el dominio de fijación de anticuerpo o los dominios de fijación al antígeno. Por ejemplo, en una forma de realización de la invención, se proporciona un anticuerpo contra V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este comprende las 6 regiones de CDR de un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en ADT1-4-105, ADT1-4-107, ADT1-4-110, ADT1-4-112, ADT1-4-117, ADT1-4-19, ADT1-4-21, ADT1-4-31, ADT1-4-139, ADT1-4-4, ADT1-4-143, ADT1-4-53, ADT1-4-173, ADT1-4-2, ADT1-4-8, ADT1-4-82, ADT1-4-83, ADT1-4-3, ADT1-4-84, ADT1-4-86, ADT1-4-95, ADT1-4-1, ADT1-4-6, ADT1-4-138, ADT1-7-10, ADT1-7-15, ADT1-7-17, ADT1-7-18, ADT1-7-19, ADT1-7-20, ADT1-7-22, ADT1-7-23, ADT1-7-42, ADT1-7-3 y ADT1-7-61, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este tiene hasta 10 sustituciones de aminoácidos a lo largo de todas sus regiones de CDR, adecuadamente hasta 5 sustituciones de aminoácidos o hasta 2 sustituciones de aminoácidos. En una forma de realización adicional de la invención, se proporciona un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el

anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este comprende las secuencias de VH y VL de un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en ADT1-4-105, ADT1-4-107, ADT1-4-110, ADT1-4-112, ADT1-4-117, ADT1-4-19, ADT1-4-21, ADT1-4-31, ADT1-4-139, ADT1-4-4, ADT1-4-143, ADT1-4-53, ADT1-4-173, ADT1-4-2, ADT1-4-8, ADT1-4-82, ADT1-4-83, ADT1-4-3, ADT1-4-84, ADT1-4-86, ADT1-4-95, ADT1-4-1, ADT1-4-6, ADT1-4-138, ADT1-7-10, ADT1-7-15, ADT1-7-17, ADT1-7-18, ADT1-7-19, ADT1-7-20, ADT1-7-22, ADT1-7-23, ADT1-7-42, ADT1-7-3 y ADT1-7-61, en donde el anticuerpo tiene hasta 10 sustituciones de aminoácidos a lo largo de sus secuencias de VH y VL, adecuadamente hasta 5 sustituciones de aminoácidos o hasta 2 sustituciones de aminoácidos. En aun otra forma de realización de la invención, se proporciona un anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este es un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en ADT1-4-105, ADT1-4-107, ADT1-4-110, ADT1-4-112, ADT1-4-117, ADT1-4-19, ADT1-4-21, ADT1-4-31, ADT1-4-139, ADT1-4-4, ADT1-4-143, ADT1-4-53, ADT1-4-173, ADT1-4-2, ADT1-4-8, ADT1-4-82, ADT1-4-83, ADT1-4-3, ADT1-4-84, ADT1-4-86, ADT1-4-95, ADT1-4-1, ADT1-4-6, ADT1-4-138, ADT1-7-10, ADT1-7-15, ADT1-7-17, ADT1-7-18, ADT1-7-19, ADT1-7-20, ADT1-7-22, ADT1-7-23, ADT1-7-42, ADT1-7-3 y ADT1-7-61, en donde el anticuerpo tiene sustituciones de aminoácidos, adecuadamente hasta 5 sustituciones de aminoácidos o hasta 2 sustituciones de aminoácidos. Las sustituciones son por supuesto sustituciones con respecto a las secuencias originales de la cadena variable o CDR del anticuerpo inicial.

En algunas formas de realización, la una o más sustituciones de aminoácidos están en la región o regiones de CDR. En otras formas de realización, la una o más sustituciones de aminoácidos están en las regiones de marco, es decir, en las cadenas pesadas y livianas variables pero en la región o regiones de CDR. En otras formas de realización, la una o más sustituciones de aminoácidos pueden estar en cualquier posición en las regiones pesada variable y/o liviana variable. En algunas formas de realización, las sustituciones de aminoácidos no se producen en una secuencia de CDR.

En algunas formas de realización, las sustituciones de aminoácidos no afectan negativamente la afinidad y/o especificidad de fijación del anticuerpo. En consecuencia, el anticuerpo variante puede tener un perfil funcional igual (o sustancialmente igual) o superior al del anticuerpo del cual deriva.

En algunas formas de realización, se pueden realizar sustituciones de aminoácidos para aumentar la afinidad de fijación del anticuerpo a un antígeno particular. Por ejemplo, en formas de realización de la invención relacionadas con la mutagénesis de la serina en la posición 74 de la (región variable de la) cadena liviana, se puede realizar una sustitución para

5 aumentar la reactividad cruzada del anticuerpo con el homólogo de *Macaca fascicularis* del antígeno humano contra el cual se preparó el anticuerpo. A diferencia de otras sustituciones descritas anteriormente, esta sustitución puede ser preferentemente no conservadora. En algunas formas de realización, la sustitución puede ser una sustitución de la serina en la posición 74 por un aminoácido no polar (por ejemplo, por un aminoácido seleccionado del

10 grupo que consiste en glicina, alanina, valina, metionina, leucina e isoleucina). Alternativamente, la serina puede estar sustituida por un aminoácido que no es de la línea germinal humana (por ejemplo, por un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en arginina, cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, tirosina y valina) en la posición 74. En algunas

15 formas de realización, la serina puede estar sustituida por un aminoácido que no es de la línea germinal y que no es polar, es decir, un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en glicina, valina, metionina, leucina e isoleucina. En algunas formas de realización, la serina puede estar sustituida con una leucina.

Epítopos

20 En la presente se proporcionan anticuerpos (o fragmentos de fijación al antígeno de estos) que se fijan a un epítipo de la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$. Tal fijación puede tener opcionalmente un efecto sobre la actividad de TCR $\gamma\delta$, tal como activación. Los anticuerpos de la invención son específicos para la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$, y no se fijan a epítopos de otros antígenos, tales como la cadena V δ 2 de un TCR $\gamma\delta$ o la cadena V δ 3 de un TCR $\gamma\delta$. Los

25 anticuerpos de la presente invención pueden considerarse anticuerpos agonistas, al menos con respecto al efecto agonista producido sobre las células V δ 1 tras la fijación.

En una forma de realización, el epítipo puede ser un epítipo activador de un linfocito T $\gamma\delta$. Un epítipo “activador” puede incluir, por ejemplo, la estimulación de una función de TCR, tal como desgranulación celular, regulación descendente de TCR, citotoxicidad, proliferación,

30 movilización, supervivencia aumentada o resistencia al agotamiento, señalización intracelular, secreción de citocinas o factor de crecimiento, cambio fenotípico o un cambio en la expresión

génica. Por ejemplo, la fijación del epítipo activador puede estimular la expansión (es decir, proliferación) de la población de linfocitos T $\gamma\delta$, preferentemente la población de linfocitos T V δ 1+. En consecuencia, estos anticuerpos pueden usarse para modular la activación de linfocitos T $\gamma\delta$, y, por lo tanto, para modular la respuesta inmunitaria. Por lo tanto, en una forma de realización, la fijación del epítipo activador regula de manera descendente el TCR $\gamma\delta$. En una forma de realización adicional o alternativa, la fijación del epítipo activador activa la desgranulación del linfocito T $\gamma\delta$. En otra forma de realización adicional o alternativa, la fijación del epítipo activador promueve la inactivación mediada por linfocitos T $\gamma\delta$.

En algunas formas de realización, un epítipo activador de TRDV1 es uno que, tras fijarse a un anticuerpo, da como resultado la regulación descendente del receptor y activa opcionalmente la célula V δ 1. En algunas formas de realización, el epítipo activador es uno que regula de manera ascendente la expresión de marcadores de la activación sobre la célula V δ 1, por ejemplo, CD107a, CD25, CD69 y/o Ki67. En algunas formas de realización, el epítipo activador es uno que regula de manera ascendente la expresión de marcadores de la activación sobre la célula V δ 1, por ejemplo, CD107 y CD25, y opcionalmente CD69 y/o Ki67. En algunas formas de realización, la regulación ascendente del uno o más marcadores de la activación (tales como CD107a) puede ser regulación ascendente en presencia de células cancerosas. En formas de realización preferidas de la invención, los anticuerpos se fijan a epítopos activadores de TRDV1, en particular a través del dominio de fijación a TRDV1.

Como los receptores de linfocitos T están a menudo en complejo con otras proteínas, la regulación descendente del receptor de linfocitos T a través de la fijación del anticuerpo V δ 1 puede causar la regulación descendente de otras proteínas asociadas con el receptor de linfocitos T (es decir, la fijación del anticuerpo V δ 1 causa la regulación descendente del complejo de receptor de linfocitos T). Por ejemplo, en algunas formas de realización, un epítipo activador de TRDV1 es uno que, tras la fijación, regula de manera descendente el complejo de receptor TCR/CD3. De esta manera, los anticuerpos de la invención pueden causar la regulación descendente indirecta de las proteínas de la superficie celular que no están fijadas al anticuerpo, sino que forman un complejo con el receptor de linfocitos T. Dado que los linfocitos T que expresan cadenas gamma delta 1 (es decir, células V δ 1) representan solo una cantidad pequeña de la población total de linfocitos T, los anticuerpos de la invención pueden usarse para regular de manera descendente y selectiva (e indirecta) las proteínas en

el complejo de TCR, tales como CD3, al regular estas solo de manera descendente en las células V δ 1.

En algunas formas de realización, un epítipo que activa el complejo de receptor de linfocitos T es uno que, tras la activación, regula de manera descendente el complejo de receptor de linfocitos T sin regular de manera descendente las moléculas de CD3 no asociadas con dicho complejo de TCR de TRDV1.

El epítipo está preferentemente compuesto de al menos una porción extracelular, soluble, hidrófila o externa de la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$.

En particular, el epítipo no comprende un epítipo encontrado en una región hipervariable de la cadena V δ 1 del TCR $\gamma\delta$, en particular CDR3 de la cadena V δ 1. En una forma de realización preferida, el epítipo está dentro de la región no variable de la cadena V δ 1 del TCR $\gamma\delta$. Se apreciará que dicha fijación permite el reconocimiento único de la cadena V δ 1 sin restricción de las secuencias del TCR que son altamente variables (en particular CDR3). Se pueden reconocer de esta manera diversos complejos de TCR $\gamma\delta$ que reconocen el antígeno, solamente por la presencia de la cadena V δ 1. Como tal, se apreciará que cualquier TCR $\gamma\delta$ que comprenda la cadena V δ 1 puede ser reconocido mediante el uso de los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos como se definen en la presente, sin importar la especificidad del TCR $\gamma\delta$. En una forma de realización, el epítipo comprende uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 1-24 y/o 35-90 de SEQ ID NO: 272, por ejemplo, las porciones de la cadena V δ 1 que no son parte de las secuencias de CDR1 y/o CDR3. En una forma de realización, el epítipo no comprende residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 91-105 (CDR3) de SEQ ID NO: 272.

En algunas formas de realización, el epítipo comprende aminoácidos en la secuencia de CDR2 de TRDV-1.

De una manera similar a los linfocitos T $\alpha\beta$ bien caracterizados, los linfocitos T $\gamma\delta$ utilizan un conjunto distinto de genes variables (V), de diversidad (D), de unión (J) y constantes (C) redispuestos somáticamente, aunque los linfocitos T $\gamma\delta$ contienen menos segmentos V, D y J que los linfocitos T $\alpha\beta$. En una forma de realización, el epítipo fijado por los anticuerpos (o fragmentos de fijación al antígeno de estos) no comprende un epítipo encontrado en la región J de la cadena V δ 1 (por ejemplo, una de las cuatro regiones J codificadas en la línea germinal de la cadena delta uno humana: SEQ ID NO: 301 (J1*0) o 302 (J2*0) o 303 (J3*0) o 304

(J4*0)) o en la región C de la cadena V δ 1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 305 (C1*0) que contiene las regiones yuxtamembrana/transmembrana del terminal C). En una forma de realización, el epítipo fijado por los anticuerpos (o fragmentos de fijación al antígeno de estos) no comprende un epítipo encontrado en la secuencia líder del terminal N de la cadena V δ 1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 299). Por lo tanto, el anticuerpo o fragmento puede fijarse solamente en la región V de la cadena V δ 1 (por ejemplo, SEQ ID NO: 300). Por lo tanto, en una forma de realización, el epítipo consiste en un epítipo en la región V del TCR $\gamma\delta$ (por ejemplo, residuos de aminoácidos 1-90 de SEQ ID NO: 272).

Se hace referencia al epítipo en relación con la secuencia de V δ 1 derivada de la secuencia descrita en Luoma *et al.* (2013) *Immunity* 39: 1032-1042, y las entradas del RCSB Protein Data Bank: 3OMZ, mostradas como SEQ ID NO: 272:

AQKVTQAQSSVSMPVRKAVTLNCLYETSWWSYYIFWYKQLPSKEMIFLIRQGSDEQNAKSGR
YSVNFKKAASKSVALTISALQLEDSAKYFCALGESLTRADKLIFGKGTRVTVEPNIQNPDPVYQ
LRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSA VAWSNKSDFAC
ANAFNNSIIPEDTFFPSPESS (SEQ ID NO: 272)

SEQ ID NO: 272 representa un TCR soluble que comprende una región V (también denominada dominio variable), una región D, una región J y una región constante de TCR. La región V comprende los residuos de aminoácidos 1-90, la región D comprende los residuos de aminoácidos 91-104, la región J comprende los residuos de aminoácidos 105-115 y la región constante (derivada del receptor alfa de linfocitos T) comprende los residuos de aminoácidos 116-209. Dentro de la región V, CDR1 se define como los residuos de aminoácidos 25-34 de SEQ ID NO: 272, CDR2 se define como los residuos de aminoácidos 50-54 de SEQ ID NO: 272, y CDR3 se define como los residuos de aminoácidos 93-104 de SEQ ID NO: 272 (Xu *et al.*, PNAS USA 108(6):2414-2419 (2011)).

Por lo tanto, de acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona un anticuerpo aislado o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija a un epítipo de una cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T (TCR) $\gamma\delta$ que comprende uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos:

(i) 3-20 de SEQ ID NO: 272; y/o

(ii) 37-77 de SEQ ID NO: 272.

En cualquier aspecto de la invención, se proporciona un anticuerpo aislado o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija a un epítipo de una cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T (TCR) $\gamma\delta$ que consiste en uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos:

(i) 3-20 de SEQ ID NO: 272; y/o

(ii) 37-77 de SEQ ID NO: 272.

En una forma de realización adicional, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos reconocen adicionalmente la región V polimórfica que comprende o consiste en el epítipo de los residuos de aminoácidos 1-90 de SEQ ID NO: 306. Por lo tanto, los aminoácidos 1-90 de SEQ ID NO: 272 y la secuencia variante de la línea germinal polimórfica (aminoácidos 1-90 de SEQ ID NO: 306) pueden considerarse intercambiables al definir los epítipos descritos en la presente. Los estudios presentados en la presente demostraron que los anticuerpos de la invención pueden reconocer ambas variantes de esta secuencia de la línea germinal. A modo de ejemplo, cuando se indica que los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos como se definen en la presente reconocen epítipos que comprenden o consisten en uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 1-24 y/o 35-90 de SEQ ID NO: 272, reconocen adicionalmente epítipos equivalentes (es decir, en la misma posición) en SEQ ID NO: 306.

En una forma de realización, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos reconocen uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 1-90 de SEQ ID NO: 272. Más específicamente, en una forma de realización, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos como se definen en la presente reconocen un epítipo de la línea germinal humana en donde dicha línea germinal codifica una alanina (A) o valina (V) en la posición 71 de SEQ ID NO: 272.

En una forma de realización, el epítipo comprende o consiste en uno o más, tal como dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez o más, residuos de aminoácidos dentro de las regiones descritas.

En una forma de realización adicional, el epítipo comprende o consiste en uno o más (tal como 5 o más, tal como 10 o más) residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 3-20 de SEQ ID NO: 272. En una forma de realización alternativa, el epítipo

comprende o consiste en uno o más (tal como 5 o más, tal como 10 o más) residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 37-77 de SEQ ID NO: 272 (tal como las regiones de aminoácidos 50-54). En aun otra forma de realización, el epítipo comprende o consiste en uno o más (tal como 5 o más, tal como 10 o más) residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 3-20 (tal como 5-20 o 3-17) y uno o más (tal como 5 o más, tal como 10 o más) residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 37-77 (tal como 62-77 o 62-69) de SEQ ID NO: 272.

Se entenderá además que dicho anticuerpo (o fragmento de fijación al antígeno de este) no necesita fijar todos los aminoácidos dentro del rango definido. Tales epítipos pueden denominarse epítipos lineales. Por ejemplo, un anticuerpo que se fija a un epítipo que comprende o que consiste en residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 5-20 de SEQ ID NO: 272 puede fijarse solamente con uno o más de los residuos de aminoácidos en dicho rango, por ejemplo, los residuos de aminoácidos en cada extremo del rango (es decir, aminoácidos 5 y 20), que incluyen opcionalmente los aminoácidos dentro del rango (es decir, aminoácidos 5, 9, 16 y 20).

En una forma de realización, el epítipo comprende o consiste en al menos uno de los residuos de aminoácidos 3, 5, 9, 10, 12, 16, 17, 20, 37, 42, 50, 53, 59, 62, 64, 68, 69, 72 o 77 de SEQ ID NO: 272. En formas de realización adicionales, el epítipo comprende o consiste en uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once o doce aminoácidos seleccionados de los residuos de aminoácidos 3, 5, 9, 10, 12, 16, 17, 20, 37, 42, 50, 53, 59, 62, 64, 68, 69, 72 o 77 de SEQ ID NO: 272.

En una forma de realización, el epítipo comprende o consiste en uno o más residuos de aminoácidos dentro de las siguientes regiones de aminoácidos de SEQ ID NO: 272:

- (i) 3-17;
- (ii) 5-20;
- (iii) 37-53;
- (iv) 50-64;
- (v) 59-72;
- (vi) 59-77;
- (vii) 62-69; y/o
- (viii) 62-77.

En formas de realización adicionales, el epítipo comprende o consiste en uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos: 5-20 y 62-77 (por ejemplo, entre otras, formas de realización relacionadas con anticuerpos derivados del clon parental E07, tales como variantes con maduración de afinidad de estos); 50-64 (por ejemplo, entre otras, formas de realización relacionadas con anticuerpos derivados del clon parental C08, tales como variantes con maduración de afinidad de estos); 37-53 y 59-72 (por ejemplo, entre otras, formas de realización relacionadas con anticuerpos derivados del clon parental G04, tales como variantes con maduración de afinidad de estos); 59-77 (por ejemplo, entre otras, formas de realización relacionadas con anticuerpos derivados del clon parental C05, tales como variantes con maduración de afinidad de estos); o 3-17 y 62-69 (por ejemplo, entre otras, formas de realización relacionadas con anticuerpos derivados del clon parental E01, tales como variantes con maduración de afinidad de estos), de SEQ ID NO: 272. En una forma de realización adicional, el epítipo consiste en uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos: 5-20 y 62-77; 50-64; 37-53 y 59-72; 59-77; o 3-17 y 62-69, de SEQ ID NO: 272.

En una forma de realización adicional, el epítipo comprende o consiste en los residuos de aminoácidos: 3, 5, 9, 10, 12, 16, 17, 62, 64, 68 y 69 de SEQ ID NO: 272, o consiste adecuadamente en los residuos de aminoácidos: 3, 5, 9, 10, 12, 16, 17, 62, 64, 68 y 69 de SEQ ID NO: 272 (por ejemplo, entre otras, formas de realización relacionadas con anticuerpos derivados del clon parental E01, tal como variantes con maduración de afinidad de estos). En una forma de realización adicional, el epítipo comprende o consiste en los residuos de aminoácidos: 5, 9, 16, 20, 62, 64, 72 y 77 de SEQ ID NO: 272, o consiste adecuadamente en los residuos de aminoácidos: 5, 9, 16, 20, 62, 64, 72 y 77 de SEQ ID NO: 272 (por ejemplo, entre otras, formas de realización relacionadas con anticuerpos derivados del clon parental E07, tal como variantes con maduración de afinidad de estos). En aun otra forma de realización, el epítipo comprende o consiste en los residuos de aminoácidos: 37, 42, 50, 53, 59, 64, 68, 69, 72, 73 y 77 de SEQ ID NO: 272, o consiste adecuadamente en los residuos de aminoácidos: 37, 42, 50, 53, 59, 64, 68, 69, 72, 73 y 77 de SEQ ID NO: 272 (por ejemplo, entre otras, formas de realización relacionadas con anticuerpos derivados del clon parental G04, tal como variantes con maduración de afinidad de estos). En una forma de realización adicional, el epítipo comprende o consiste en los residuos de aminoácidos: 50, 53, 59, 62 y

64 de SEQ ID NO: 272, o consiste adecuadamente en los residuos de aminoácidos: 50, 53, 59, 62 y 64 de SEQ ID NO: 272 (por ejemplo, entre otras, formas de realización relacionadas con anticuerpos derivados del clon parental C08, tal como variantes con maduración de afinidad de estos). En una forma de realización adicional, el epítipo comprende o consiste en los residuos de aminoácidos: 59, 60, 68 y 72 de SEQ ID NO: 272, o consiste adecuadamente en los residuos de aminoácidos: 59, 60, 68 y 72 de SEQ ID NO: 272 (por ejemplo, entre otras, formas de realización relacionadas con anticuerpos derivados del clon parental C05, tal como variantes con maduración de afinidad de estos).

En una forma de realización, el epítipo comprende o consiste en uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 37-53 y/o 59-77 de SEQ ID NO: 272. En una forma de realización adicional, el epítipo consiste en uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 37-53 y 59-77 de SEQ ID NO: 272. En una forma de realización adicional alternativa, el epítipo comprende o consiste en uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 37-53 o 59-77 de SEQ ID NO: 272. Los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos que tienen tales epítipos pueden tener algunas o la totalidad de las secuencias de G04, o tales anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos pueden derivarse de G04. Por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos que tienen una o más secuencias de CDR de G04 o una o ambas de las secuencias de VH y VL de G04 pueden fijarse a tales epítipos.

En una forma de realización, el epítipo comprende o consiste en uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 5-20 y/o 62-77 de SEQ ID NO: 272. En una forma de realización adicional, el epítipo consiste en uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 5-20 y 62-77 de SEQ ID NO: 272. En una forma de realización adicional alternativa, el epítipo comprende o consiste en uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 5-20 o 62-77 de SEQ ID NO: 272. Los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos que tienen tales epítipos pueden tener algunas o la totalidad de las secuencias de E07, o tales anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos pueden derivarse de E07. Por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos que tienen una o más secuencias de CDR de E07 o una o ambas de las secuencias de VH y VL de E07 pueden fijarse a tales epítipos.

En una forma de realización, el epítipo comprende o consiste en uno o más residuos de

aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 50-64 de SEQ ID NO: 272. En una forma de realización adicional, el epítipo consiste en uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 50-64 de SEQ ID NO: 272. Los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos que tienen tales epítipos pueden tener algunas o la totalidad de las secuencias de C08, o tales anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos pueden derivarse de C08. Por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos que tienen una o más secuencias de CDR de C08 o una o ambas de las secuencias de VH y VL de C08 pueden fijarse a tales epítipos.

En una forma de realización, el epítipo comprende o consiste en uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 59-72 de SEQ ID NO: 272. En una forma de realización adicional, el epítipo consiste en uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 59-72 de SEQ ID NO: 272. Los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos que tienen tales epítipos pueden tener algunas o la totalidad de las secuencias de C05, o tales anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos pueden derivarse de C05. Por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos que tienen una o más secuencias de CDR de C05 o una o ambas de las secuencias de VH y VL de C05 pueden fijarse a tales epítipos.

En una forma de realización, el epítipo no comprende o consiste en residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 11-21 de SEQ ID NO: 272. En una forma de realización, el epítipo no comprende o consiste en residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 21-28 de SEQ ID NO: 272. En una forma de realización, el epítipo no comprende o consiste en residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 59 y 60 de SEQ ID NO: 272. En una forma de realización, el epítipo no comprende o consiste en residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 67-82 de SEQ ID NO: 272.

Los epítipos de anticuerpos con maduración de afinidad serán generalmente iguales que los epítipos identificados en la presente para el clon parental. En el caso de los epítipos en TRDV1 de *Macaca fascicularis*, las posiciones de los epítipos de los anticuerpos con maduración de afinidad tendrán generalmente las mismas posiciones que los epítipos identificados para el clon parental correspondiente. La referencia a “posiciones” es necesaria ya que la persona del oficio de nivel medio apreciaría que la identidad de algunos de los

aminoácidos en los epítomos es diferente en la TRDV1 humana. A pesar de estas variaciones entre TRDV1 humana y de *Macaca fascicularis*, tales anticuerpos aún son capaces de fijarse específicamente a ambos antígenos.

En una forma de realización, el epítomo no es el mismo epítomo al que se fija un anticuerpo anti-V δ 1 disponible en el comercio, tal como TS-1 o TS8,2. Como se describe en WO2017197347, se detectó la fijación de TS-1 y TS8,2 a TCR solubles cuando la cadena δ 1 incluía secuencias V δ 1 J1 y V δ 1 J2, pero no a la cadena V δ 1 J3, lo que indica que la fijación de TS-1 y TS8,2 implicó residuos cruciales en las regiones delta J1 y delta J2.

Las referencias a “dentro de” en la presente incluyen los extremos del rango definido. Por ejemplo, “dentro de las regiones de aminoácidos 5-20” se refiere a todos los residuos de aminoácidos desde el residuo 5 inclusive hasta el residuo 20 inclusive.

En la técnica se conocen diversas técnicas para determinar a qué epítomo se fija un anticuerpo. Las técnicas de ejemplo incluyen, por ejemplo, ensayos de bloqueo cruzado de rutina, análisis mutacional de barrido de alanina, análisis de transferencias de péptidos, análisis de escisión de péptidos, estudios cristalográficos y análisis de NMR. Además, se pueden emplear métodos tales como escisión de epítomos, extracción de epítomos y modificación química de antígenos. Otro método que puede usarse para identificar los aminoácidos dentro de un polipéptido con el que interactúa un anticuerpo es el intercambio de hidrógeno/deuterio detectado mediante espectrometría de masas (como se describe en el Ejemplo 9). En términos generales, el método de intercambio de hidrógeno/deuterio implica etiquetar con deuterio la proteína de interés, seguido de fijación del anticuerpo a la proteína etiquetada con deuterio. A continuación, el complejo proteína/anticuerpo se transfiere a agua y los protones intercambiables dentro de los aminoácidos que están protegidos por el complejo de anticuerpo se someten a un retrocambio de deuterio a hidrógeno a una velocidad más lenta que los protones intercambiables dentro de aminoácidos que no son parte de la interfaz. Como resultado, los aminoácidos que forman parte de la interfaz proteína/anticuerpo pueden retener deuterio y, por lo tanto, exhibir una masa relativamente mayor en comparación con los aminoácidos no incluidos en la interfaz. Después de la disociación del anticuerpo, la proteína diana se somete a escisión de proteasa y análisis de espectrometría de masas, lo que revela los residuos etiquetados con deuterio que corresponden a los aminoácidos específicos con los cuales interactúa el anticuerpo.

Por lo tanto, los anticuerpos y fragmentos de fijación al antígeno se fijan específicamente de manera adecuada tanto a TRDV1 humana (SEQ ID NO: 272 y la variante polimórfica de SEQ ID NO: 306) como a un ortólogo en *Macaca fascicularis*, TRDV1 de *Macaca fascicularis* (SEQ ID NO: 308, ver también UniProtKB - G7P9S6 (G7P9S6_MACFA)). En algunas formas de realización, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos son anticuerpos derivados de G04 que se fijan específicamente tanto a TRDV1 humana como a TRDV1 de *Macaca fascicularis*. Se conjetura que los epítomos fijados a los anticuerpos de la invención (por ejemplo, entre otros, los que se fijan en una región dentro de los residuos de aminoácidos 37 a 77 de cualquiera de SEQ ID NO: 272, 306 o 308) pueden ser particularmente ventajosos, ya que permiten la provisión de anticuerpos anti-Vδ1 que son específicos para Vδ1 (es decir, no se fijan a antígenos similares, tales como Vδ2 o Vδ3) pero que también proporcionan reactividad cruzada con variantes polimórficas de Vδ1 (es decir TRDV1 SEQ ID NO: 272 y TRDV1 SEQ ID NO: 306, a pesar del polimorfismo en el residuo de la posición 20 y de que este se identifique como un posible residuo de contacto o esté cerca de un residuo de contacto identificado para algunos anticuerpos) y proporcionan reactividad cruzada entre Vδ1 humana y de *Macaca fascicularis* (a pesar de que todos los residuos 42, 50, 54, 59, 60, 68, 73, 75 y 76 que ocurren dentro de la región de los residuos de aminoácidos 37 a 77 de SEQ ID NO: 272 y 308 son diferentes en las secuencias de TRDV1 humana y de *Macaca fascicularis*).

Epítomos de anticuerpos derivados de ADT1-4

Los anticuerpos derivados de ADT1-4 se fijan al mismo epítomo, o sustancialmente el mismo epítomo, que el anticuerpo parental ADT1-4. En consecuencia, en algunas formas de realización, en particular las relacionadas con anticuerpos derivados de, o relacionados con, el anticuerpo parental ADT1-4, el anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno se fija a un epítomo que comprende o que consiste en uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 37 a 77, por ejemplo, dentro de las regiones de aminoácidos 37-53 y/o 59-77, de SEQ ID NO: 272 (o SEQ ID NO: 306). En algunas formas de realización, el epítomo comprende o consiste en los residuos de aminoácidos 37, 42, 50, 53, 59, 64, 68, 69, 72, 73 y 77 de SEQ ID NO: 272 (o SEQ ID NO: 306). En algunas formas de realización, el epítomo consiste en los residuos de aminoácidos 37, 42, 50, 53, 59, 64, 68, 69, 72, 73 y 77 de SEQ ID NO: 272 (o SEQ ID NO: 306).

Los anticuerpos derivados de ADT1-4 también se fijan al epítipo de la cadena variable delta 1 (V δ 1) de *Macaca fascicularis* de un receptor de linfocitos T (TCR) $\gamma\delta$, es decir, TRDV1 de *Macaca fascicularis* (SEQ ID NO: 308). Por lo tanto, en algunas formas de realización, en particular las relacionadas con anticuerpos derivados de, o relacionados con, el anticuerpo parental G04, el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno se fija a un epítipo que comprende o consiste en uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 37 a 77, por ejemplo, dentro de las regiones de aminoácidos 37-53 y/o 59-77, de SEQ ID NO: 308. En algunas formas de realización, el epítipo comprende o consiste en los residuos de aminoácidos 37, 42, 50, 53, 59, 64, 68, 69, 72, 73 y 77 de SEQ ID NO: 308. En algunas formas de realización, el epítipo consiste en los residuos de aminoácidos 37, 42, 50, 53, 59, 64, 68, 69, 72, 73 y 77 de SEQ ID NO: 308.

Dada la reactividad cruzada de los anticuerpos derivados de ADT1-4 en particular, y la capacidad de los anticuerpos divulgados en la presente para fijarse a la variante polimórfica de TRDV1, en algunas formas de realización, en particular las relacionadas con anticuerpos derivados de, o relacionados con, el anticuerpo parental G04, el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno se fija a un epítipo que comprende o consiste en uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 37 a 77, por ejemplo, dentro de las regiones de aminoácidos 37-53 y/o 59-77, de SEQ ID NO: 272, 306 y 308. En algunas formas de realización, el epítipo comprende o consiste en los residuos de aminoácidos 37, 42, 50, 53, 59, 64, 68, 69, 72, 73 y 77 de SEQ ID NO: 272, 306 y 308. En algunas formas de realización, el epítipo consiste en los residuos de aminoácidos 37, 42, 50, 53, 59, 64, 68, 69, 72, 73 y 77 de SEQ ID NO: 272, 306 y 308.

La provisión de anticuerpos que comprenden o consisten en epítipos tales como los descritos anteriormente sin dejar de proporcionar reactividad cruzada entre secuencias de TRDV1 humana y de *Macaca fascicularis* es sorprendente, dada la ubicación de las variantes de aminoácidos en estas secuencias de las dos especies.

Epítipos de anticuerpos derivados de ADT1-7

Los anticuerpos derivados de ADT1-7 se fijan al mismo epítipo, o sustancialmente el mismo epítipo, que el anticuerpo parental ADT1-7. En consecuencia, en algunas formas de realización, en particular las relacionadas con anticuerpos derivados de, o relacionados con, el anticuerpo parental ADT1-7, el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno se fija a

un epítopo que comprende o que consiste en uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 5-20 y/o 62-77 de SEQ ID NO: 272 (o SEQ ID NO: 306). En alguna forma de realización, el epítopo comprende o consiste en los residuos de aminoácidos 5, 9, 16, 20, 62, 64, 72 y 77 de SEQ ID NO: 272 (o SEQ ID NO: 306). En algunas formas de realización, el epítopo consiste en los residuos de aminoácidos 5, 9, 16, 20, 62, 64, 72 y 77 de SEQ ID NO: 272 (o SEQ ID NO: 306).

Marco y otras secuencias

Adecuadamente, cada una de las regiones de VH y VL de los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de la invención comprende cuatro regiones de marco (FR1-FR4). En una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este comprende una región de marco (por ejemplo, FR1, FR2, FR3 y/o FR4) que comprende una secuencia que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con la región de marco en cualquiera de SEQ ID NO: 2 a 25 (por ejemplo, en el caso de secuencias variables de la cadena liviana derivadas de G04), SEQ ID NO: 27 a 50 (por ejemplo, en el caso de secuencias variables de la cadena pesada derivadas de G04), SEQ ID NO: 107 a 117 (por ejemplo, en el caso de la secuencia variable de la cadena liviana derivada de E07) o SEQ ID NO: 119 a 129 (por ejemplo, en el caso de la secuencia variable de la cadena liviana derivada de E07). En una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este comprende una región de marco (por ejemplo, FR1, FR2, FR3 y/o FR4) que comprende una secuencia que tiene al menos 90 %, tal como al menos 95 %, 97 % o 99 % de identidad de secuencia con la región de marco en cualquiera de SEQ ID NO: 2 a 25 (por ejemplo, en el caso de secuencias variables de la cadena liviana derivadas de G04), SEQ ID NO: 27 a 50 (por ejemplo, en el caso de secuencias variables de la cadena pesada derivadas de G04), SEQ ID NO: 107 a 117 (por ejemplo, en el caso de la secuencia variable de la cadena liviana derivada de E07) o SEQ ID NO: 119 a 129 (por ejemplo, en el caso de la secuencia variable de la cadena liviana derivada de E07). En una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este comprende una región de marco (por ejemplo, FR1, FR2, FR3 y/o FR4) que comprende una secuencia en cualquiera de SEQ ID NO: 2 a 25 (por ejemplo, en el caso de secuencias variables de la cadena liviana derivadas de G04), SEQ ID NO: 27 a 50 (por ejemplo, en el caso de secuencias variables de la cadena pesada derivadas de G04), SEQ ID NO: 107 a 117 (por ejemplo, en el caso de la secuencia variable de la cadena liviana derivada

- de E07) o SEQ ID NO: 119 a 129 (por ejemplo, en el caso de la secuencia variable de la cadena liviana derivada de E07). En una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este comprende una región de marco (por ejemplo, FR1, FR2, FR3 y/o FR4) que consiste en una secuencia en cualquiera de SEQ ID NO: 2 a 25 (por ejemplo, en el caso de secuencias variables de la cadena liviana derivadas de G04), SEQ ID NO: 27 a 50 (por ejemplo, en el caso de secuencias variables de la cadena pesada derivadas de G04), SEQ ID NO: 107 a 117 (por ejemplo, en el caso de la secuencia variable de la cadena liviana derivada de E07) o SEQ ID NO: 119 a 129 (por ejemplo, en el caso de la secuencia variable de la cadena liviana derivada de E07).
- 10 En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este puede comprender una secuencia de HFR1 (es decir, región de marco 1 pesada) que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 170 o 171; una secuencia de HFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 172; una secuencia de HFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 173; una secuencia de HFR4 que
- 15 comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 174; una secuencia de LFR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 175; una secuencia de LFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 176; una secuencia de LFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 177 o 178; y/o una secuencia de LFR4 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 179, 180, 181 o 182.
- 20 En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este puede comprender una secuencia de HFR1 (es decir, región de marco 1 pesada) que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 170 o 171; una secuencia de HFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 172; una secuencia de HFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 173; una secuencia de HFR4 que
- 25 comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 174; una secuencia de LFR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 175; una secuencia de LFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 176; una secuencia de LFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 177; y/o una secuencia de LFR4 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 179, 180, 181 o 182.
- 30 En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este puede comprender una secuencia de HFR1 (es decir, región de marco 1 pesada) que

comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 170 o 171; una secuencia de HFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 172; una secuencia de HFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 173; una secuencia de HFR4 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 174; una secuencia de LFR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 175; una secuencia de LFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 176; una secuencia de LFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 177; y/o una secuencia de LFR4 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 179 o 181.

En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este puede comprender una secuencia de HFR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 189; una secuencia de HFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 190; una secuencia de HFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 191; una secuencia de HFR4 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 192; una secuencia de LFR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 193 y 194; una secuencia de LFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 195; una secuencia de LFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 196; y una secuencia de LFR4 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 197.

En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este puede comprender una secuencia de HFR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 189; una secuencia de HFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 190; una secuencia de HFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 191; una secuencia de HFR4 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 192; una secuencia de LFR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 193; una secuencia de LFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 195; una secuencia de LFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 196; y una secuencia de LFR4 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 197.

En el caso de fragmentos que comprenden tanto la región VH como la región VL, estas pueden estar asociadas de manera covalente (por ejemplo, mediante enlaces disulfuro o un ligador) o no covalente. El fragmento de anticuerpo descrito en la presente puede comprender

un scFv, es decir, un fragmento que comprende una región VH y una región VL unidas por un ligador. En una forma de realización, las regiones VH y VL están unidas por un ligador polipeptídico (por ejemplo, sintético). El ligador polipeptídico puede comprender un ligador $(\text{Gly}_4\text{Ser})_n$, donde n = de 1 a 8, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o 7. El ligador polipeptídico puede comprender un ligador $[(\text{Gly}_4\text{Ser})_n(\text{Gly}_3\text{AlaSer})_m]_p$, donde n = de 1 a 8, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o 7, m = de 1 a 8, por ejemplo, 0, 1, 2 o 3, y p = de 1 a 8, por ejemplo, 1, 2 o 3. En una forma de realización adicional, el ligador comprende SEQ ID NO: 291. En una forma de realización adicional, el ligador consiste en SEQ ID NO: 291.

La persona del oficio de nivel medio entenderá que se pueden diseñar y elaborar constructos de scFv que incluyan modificaciones en el terminal N y el terminal C para ayudar con la traducción, purificación y detección. Por ejemplo, en el terminal N de una secuencia de scFv, un residuo de aminoácido de metionina y/o alanina adicional se puede incluir adelante de las secuencias de VH canónicas (por ejemplo, QVQ o EVQ de inicio). En el terminal C (es decir, el terminal C del final de la secuencia de dominio VL madura canónica según la definición de IMGT) se pueden incluir secuencias adicionales, tales como (i) una secuencia parcial del dominio constante y/o (ii) secuencias sintéticas adicionales que incluyen etiquetas, tales como etiquetas His y etiquetas Flag, para ayudar con la purificación y detección (por ejemplo, las etiquetas de cualquiera de SEQ ID NO: 292 a 295).

Como se describe en la presente, los anticuerpos pueden estar en cualquier formato. En una forma de realización preferida, el anticuerpo es un formato de IgG1 (por ejemplo, IgG1 humana) (es decir, el anticuerpo es un anticuerpo IgG1 humano).

En algunas formas de realización, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este comprende una región constante de la cadena liviana que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 296 o SEQ ID NO: 307 (o una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 296 o SEQ ID NO: 307) y/o una región constante de la cadena pesada que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 297 o SEQ ID NO: 298 (o una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad de

secuencia con SEQ ID NO: 297 o SEQ ID NO: 298). En algunas formas de realización, la función efectora de la región constante de la cadena pesada puede reducirse o deshabilitarse (mutaciones que deshabilitan la función efectora). La persona del oficio de nivel medio conoce mutaciones adecuadas para atenuar las funciones efectoras. Por ejemplo, las mutaciones

5 L235A y/o G237A ("LAGA") o las mutaciones L234A y/o L235A ("LALA") de acuerdo con la numeración EU. Por ejemplo, en una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este comprende una región constante de la cadena liviana que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 296 y/o una región constante de la cadena pesada que comprende la secuencia de SEQ ID NO: 297 o SEQ ID NO: 298.

10 **Anticuerpos que compiten**

En una forma de realización, el anticuerpo se fija al mismo epítopo o a esencialmente el mismo epítopo que, o compite con, un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente. Se puede determinar fácilmente si un anticuerpo se fija al mismo epítopo que, o compite por la fijación con, un anticuerpo anti-V δ 1 de referencia

15 mediante el uso de métodos de rutina conocidos en la técnica. Por ejemplo, para determinar si un anticuerpo de prueba se fija al mismo epítopo que un anticuerpo anti-V δ 1 de referencia de la invención, el anticuerpo de referencia se puede fijar a una proteína o péptido V δ 1 en condiciones de saturación. A continuación, se evalúa la capacidad de un anticuerpo de prueba para fijarse a la cadena V δ 1. Si el anticuerpo de prueba puede fijarse a V δ 1 después de la

20 fijación por saturación con el anticuerpo anti-V δ 1 de referencia, se puede concluir que el anticuerpo de prueba se fija a un epítopo diferente que el anticuerpo anti-V δ 1 de referencia. Por otro lado, si el anticuerpo de prueba no puede fijarse a la cadena V δ 1 después de la fijación por saturación con el anticuerpo anti-V δ 1 de referencia, entonces el anticuerpo de prueba puede fijarse al mismo epítopo al que se fija el anticuerpo anti-V δ 1 de referencia de la

25 invención.

La presente invención también incluye anticuerpos anti-V δ 1 que compiten por la fijación a V δ 1 con un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente, o un anticuerpo que tiene las secuencias de CDR de cualquiera de los anticuerpos de ejemplo descritos en la presente. Por ejemplo, se pueden realizar ensayos competitivos con el

30 anticuerpo de la presente invención con el fin de determinar qué proteínas, anticuerpos y otros antagonistas compiten por la fijación a la cadena V δ 1 con el anticuerpo de la presente

invención y/o comparten el epítopo. Las personas del oficio de nivel medio conocen estos ensayos; estos evalúan la competencia entre antagonistas o ligandos en una cantidad limitada de sitios de fijación en una proteína, por ejemplo, Vδ1. El anticuerpo (o fragmento de fijación al antígeno de este) se inmoviliza o insolubiliza antes o después de la competencia y la muestra fijada a la cadena Vδ1 se separa de la muestra no fijada, por ejemplo, mediante decantación (donde el anticuerpo estaba preinsolubilizado) o mediante centrifugación (donde el anticuerpo se precipita antes de la reacción de competencia). Además, la fijación competitiva se puede determinar al determinar si la función está alterada por la fijación o falta de fijación del anticuerpo a la proteína, por ejemplo, si la molécula de anticuerpo inhibe o potencia la actividad enzimática, por ejemplo, de una etiqueta. Se pueden utilizar ELISA y otros ensayos funcionales, como se conocen en la técnica y se describen en la presente.

Dos anticuerpos se fijan al mismo epítopo o epítopos superpuestos si cada uno inhibe (bloquea) competitivamente la fijación del otro al antígeno diana. Es decir, un exceso de 1, 5, 10, 20 o 100 veces de un anticuerpo inhibe la fijación del otro en al menos 50 %, pero preferentemente, 75 %, 90 % o incluso 99 %, según se mide en un ensayo de fijación competitiva. Alternativamente, dos anticuerpos tienen el mismo epítopo si esencialmente todas las mutaciones de aminoácidos en el antígeno diana que reducen o eliminan la fijación de un anticuerpo reducen o eliminan la fijación del otro.

Luego se puede llevar a cabo experimentación de rutina adicional (por ejemplo, análisis de fijación y mutación de péptidos) para confirmar si la falta de fijación observada del anticuerpo de prueba se debe en efecto a la fijación al mismo epítopo al que se fija el anticuerpo de referencia o si el bloqueo estérico (u otro fenómeno) es la causa de la falta de fijación observada. Se pueden realizar experimentos de este tipo con ELISA, RIA, resonancia de plasmones superficiales, citometría de flujo o cualquier otro ensayo cuantitativo o cualitativo de fijación a anticuerpos disponible en la técnica.

Fijación de anticuerpos y propiedades farmacológicas de los anticuerpos

Los anticuerpos de la invención pueden tener propiedades de fijación y/o farmacológicas favorables, por ejemplo, como se describen a continuación.

Afinidad de fijación (K_D)

En términos generales, los clones con maduración de afinidad tendrán mayor afinidad con sus antígenos que los clones parentales. Por ejemplo, la afinidad con TRDV1 humana (SEQ ID

NO: 272 o 306) será al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 100 % o al menos 500 % mayor que la afinidad del anticuerpo parental.

Los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden fijarse a TRDV1 humana (SEQ ID NO: 272 o 306) con una afinidad de fijación (K_D , por ejemplo, medida mediante resonancia de plasmones superficiales) menor de alrededor de 100 nM, preferentemente menor de alrededor de 50 nM.

Los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos pueden definirse adicionalmente como que se fijan a TRDV1 humana (SEQ ID NO: 272 o 306) con una afinidad de fijación (K_D , por ejemplo, medida mediante resonancia de plasmones superficiales) menor de alrededor de 10 nM, preferentemente menor de alrededor de 5 nM.

En algunas formas de realización, por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos relacionados con, o derivados de, el linaje ADT1-4, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden fijarse a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 100 nM, preferentemente menor de alrededor de 50 nM.

En algunas formas de realización, por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos relacionados con, o derivados de, el linaje ADT1-4 (pero sin incluir ADT1-4-138), los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden fijarse a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM, preferentemente menor de alrededor de 5 nM.

En algunas formas de realización, por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos relacionados con, o derivados de, los miembros del linaje ADT1-4 ADT1-4-19, ADT1-4-21, ADT1-4-31, ADT1-4-53, ADT1-4-2, ADT1-4-86, ADT1-4-112, ADT1-4-143 y/o ADT1-4-1, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden fijarse a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM, preferentemente menor de alrededor de 1 nM.

Los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden fijarse a TRDV1 de *Macaca fascicularis* (SEQ ID NO: 308) con una afinidad de fijación (K_D , por ejemplo, medida mediante resonancia de plasmones superficiales) menor de alrededor de 100 nM, preferentemente menor de alrededor de 50 nM.

En algunas formas de realización, por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos relacionados con, o derivados de, el linaje ADT1-4, los anticuerpos o

fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden fijarse a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con una K_D menor de alrededor de 100 nM, preferentemente menor de alrededor de 50 nM.

5 En algunas formas de realización, por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos relacionados con, o derivados de, los miembros del linaje ADT1-4 ADT1-4-19, ADT1-4-21, ADT1-4-31, ADT1-4-53, ADT1-4-2, ADT1-4-86, ADT1-4-112, ADT1-4-143 y/o ADT1-4-1, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden fijarse a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con una K_D menor de alrededor de 50 nM.

10 En algunas formas de realización, por ejemplo, las relacionadas con, o derivadas de, el linaje ADT1-4, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden fijarse a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 100 nM, preferentemente, menor de alrededor de 50 nM, y fijarse a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con una afinidad de fijación (K_D , por ejemplo, medida mediante resonancia de plasmones superficiales) menor de alrededor de 100 nM, preferentemente, menor de alrededor de 50 nM.

15 En algunas formas de realización, por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos relacionados con, o derivados de, el linaje ADT1-4 (pero sin incluir ADT1-4-138), los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden fijarse a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM y fijarse a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con una afinidad de fijación (K_D , por ejemplo, medida mediante resonancia de plasmones superficiales) menor de alrededor de 100 nM. Preferentemente, en esta forma de realización, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden fijarse a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 5 nM y fijarse a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con una afinidad de fijación (K_D , por ejemplo, medida mediante resonancia de plasmones superficiales) menor de alrededor de 50 nM.

25 En algunas formas de realización, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos relacionados con, o derivados de, los miembros del linaje ADT1-4 ADT1-4-19, ADT1-4-21, ADT1-4-31, ADT1-4-53, ADT1-4-2, ADT1-4-86, ADT1-4-112, ADT1-4-143 y/o ADT1-4-1, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden fijarse a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM y fijarse a TRDV1 humana con una K_D menor de 50 nM. Preferentemente, en esta forma de realización, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden fijarse a

30

TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 1 nM y fijarse a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con una afinidad de fijación (K_D , por ejemplo, medida mediante resonancia de plasmones superficiales) menor de alrededor de 50 nM.

En algunas formas de realización, por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos relacionados con, o derivados de, el linaje ADT1-7, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden fijarse a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM, preferentemente, menor de alrededor de 5 nM.

En algunas formas de realización, la afinidad de fijación del anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este se establece al recubrir con el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este directa o indirectamente (por ejemplo, mediante captura con un Fc anti-IgG humana) la superficie de un sensor (por ejemplo, un chip de alta capacidad de amina o equivalente), en donde la diana fijada al anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este (es decir, la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$) se hace fluir sobre el chip para detectar la fijación.

Adecuadamente, se usa un instrumento MASS-2 (que también puede denominarse Sierra SPR-32) a 25°C en PBS + 0,02 % de amortiguador de corrida Tween 20 a 30 μ l/min.

En la presente se describen otros ensayos que pueden usarse para definir la función del anticuerpo. Por ejemplo, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este descrito en la presente puede evaluarse mediante acoplamiento de TCR $\gamma\delta$, por ejemplo, al medir la regulación descendente del TCR $\gamma\delta$ tras la fijación del anticuerpo. Se puede medir la expresión superficial del TCR $\gamma\delta$ después de la aplicación del anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este (presentado opcionalmente en la superficie de una célula), por ejemplo, mediante citometría de flujo. El anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este descrito en la presente también puede evaluarse al medir la desgranulación de linfocitos T $\gamma\delta$.

Por ejemplo, la expresión de CD107a, un marcador de la desgranulación celular, puede medirse después de la aplicación del anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este (presentado opcionalmente en la superficie de una célula) a linfocitos T $\gamma\delta$, por ejemplo, mediante citometría de flujo. El anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este descrito en la presente también puede evaluarse al medir la actividad de inactivación mediada por linfocitos T $\gamma\delta$ (para evaluar si el anticuerpo tiene un efecto sobre la actividad de inactivación del linfocito T $\gamma\delta$). Por ejemplo, las células diana pueden incubarse con linfocitos T $\gamma\delta$ en presencia del anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este (presentado

opcionalmente en la superficie de una célula). Después de la incubación, el cultivo puede teñirse con un tinte de viabilidad celular para distinguir entre células diana vivas y muertas. Luego se puede medir la proporción de células muertas, por ejemplo, mediante citometría de flujo.

5 **Concentraciones de inhibición (IC50 e IC90)**

Regulación descendente de TCR

La regulación descendente de TCR puede medirse de acuerdo con los ensayos descritos en la presente. Por ejemplo, el anticuerpo que se evaluará puede incubarse a una concentración diferente con un cultivo de linfocitos T $\gamma\delta$ y la regulación descendente puede medirse. Si se mide la inactivación celular (por ejemplo, inactivación de células THP-1), los linfocitos T $\gamma\delta$ se cocultivan con una línea celular adecuada, por ejemplo, células THP-1. La regulación descendente de TCR puede medirse mediante citometría de flujo. La inactivación celular puede lograrse mediante cualquier medio adecuado, por ejemplo, mediante citometría de flujo. Para los estudios de regulación descendente de TCR iniciales con los anticuerpos parentales (por ejemplo, ADT1-7 y ADT1-4), el ensayo de regulación descendente de TCR consistía en 'cargar' el anticuerpo en células THP-1 +ve del receptor gamma de Fc (ver Ejemplo1, Ejemplo6 y Tabla 5). Como tales, los anticuerpos en esta instancia se presentan en una superficie celular antes de la coincubación con linfocitos T $\gamma\delta$. Dicha carga proporciona la máxima oportunidad para aprovechar los efectos de reticulación sobre el acoplamiento de TCR. Además de la carga de anticuerpos en células +ve receptoras de Fc, los enfoques alternativos similares para presentar el anticuerpo en superficies sólidas pueden incluir preincubar el anticuerpo en una placa (denominado fijado a placa), o el uso de microesferas portadoras para presentar el anticuerpo. En todos dichos ensayos, y una vez presentado en una superficie sólida, luego es habitual investigar y medir el efecto técnico conferido por el anticuerpo tras el acoplamiento del receptor diana (en esta instancia, un receptor de linfocitos T $\gamma\delta$). Presentar los anticuerpos de este modo es común, en particular cuando se exploran los efectos del acoplamiento de anticuerpos de dianas y complejos receptores de células inmunitarias tal como el acoplamiento de anticuerpo de dianas tales como CD3, CD28, etc. En contraste, para los anticuerpos con maduración de afinidad de la invención como se describen en la presente, se quiso diseccionar y comparar el impacto de la maduración de afinidad al máximo y, por consiguiente, se exploraron las capacidades de estos anticuerpos en

formatos de ensayo de regulación descendente de TCR más “solubles”. La evaluación del efecto en solución también puede ser más relevante fisiológicamente. Por estas razones, y a menos que se indique lo contrario, en todos los experimentos de basados en células de regulación descendente de TCR en donde los efectos de anticuerpos con maduración de afinidad, anticuerpos multiespecíficos, o fragmentos de estos, se midan o se caractericen y se comparen con anticuerpos parentales (por ejemplo, ver la Figura 35), se explora un formato de ensayo soluble. La diferencia de IC50 de utilizar este ensayo soluble más estricto se resume a continuación, en donde la regulación descendente de TCR de los valores de EC50 para una molécula parental de ejemplo (ADT1-4) se resume mediante ambos enfoques.

- 10 Regulación descendente de TCR: Formato de ensayo ‘presentado’ en comparación con ‘soluble’:

IC50 de ADT1-4 (cargado en células THP-1): 0,01-0,05 ug/ml = 0,065 nM a 0,325 nM

(Ver el Ejemplo 1, el Ejemplo 6 y la Tabla 5)

en comparación con

- 15 ADT1-4 IC50 (ensayo soluble, agregado en solución) = 38,28 nM

(Ver Figura 35 F)

Los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden tener una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 50 nM. Preferentemente, la IC50 es menor de alrededor de 10 nM.

- 20 En algunas formas de realización, por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos relacionados con, o derivados de, el linaje ADT1-4, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden tener una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 50 nM y/o una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 100 nM. Preferentemente, la IC50 es menor de
25 alrededor de 10 nM y la IC90 es menor de alrededor de 50 nM.

En algunas formas de realización, por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos relacionados con, o derivados de, el linaje ADT1-4 (pero sin incluir ADT1-4-138), los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden tener una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 1 nM y/o una
30 IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM. Preferentemente, la IC50 es menor de alrededor de 0,5 nM y la IC90 es menor de alrededor de 5 nM.

En algunas formas de realización, por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos relacionados con, o derivados de, los miembros del linaje ADT1-4 ADT1-4-19, ADT1-4-21, ADT1-4-31, ADT1-4-53, ADT1-4-2, ADT1-4-86, ADT1-4-112, ADT1-4-143 y/o ADT1-4-1, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden tener una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 1 nM y/o una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM. Preferentemente, la IC50 es menor de alrededor de 0,5 nM y la IC90 es menor de alrededor de 5 nM.

En algunas formas de realización, por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos relacionados con, o derivados de, el linaje ADT1-7, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden tener una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 50 nM. Preferentemente, la IC50 es menor de alrededor de 10 nM.

En algunas formas de realización, por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos relacionados con, o derivados de, los miembros del linaje ADT1-7 ADT1-7-20 o ADT1-7-3, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden tener una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 5 nM y/o una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM. Preferentemente, la IC50 es menor de alrededor de 10 nM y la IC90 es menor de alrededor de 5 nM.

Inactivación de células THP-1

La inactivación celular puede medirse de acuerdo con los ensayos descritos en la presente. Por ejemplo, el anticuerpo que se evaluará puede incubarse a una concentración diferente con un cocultivo de linfocitos T $\gamma\delta$ y células tumorales (por ejemplo, células THP-1). La inactivación celular puede medirse mediante cualquier medio adecuado, por ejemplo, mediante citometría de flujo.

Los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden tener una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM y/o una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM. Preferentemente, la IC50 es menor de alrededor de 5 nM y la IC90 es menor de alrededor de 50 nM.

En algunas formas de realización, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de fijación al

antígeno de estos relacionados con, o derivados de, el linaje ADT1-4, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden tener una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM y/o una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM. Preferentemente, la IC50 es menor de
5 alrededor de 5 nM y la IC90 es menor de alrededor de 50 nM.

En algunas formas de realización, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos relacionados con, o derivados de, el linaje ADT1-7, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden tener una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 5 nM y/o una IC90 para la inactivación
10 de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM. Preferentemente, la IC50 es menor de alrededor de 1 nM y la IC90 es menor de alrededor de 50 nM.

En algunas formas de realización, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos relacionados con, o derivados de, los miembros del linaje ADT1-7 ADT1-7-20 o ADT1-7-3, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención
15 pueden tener una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 5 nM y/o una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM. Preferentemente, la IC50 es menor de alrededor de 1 nM y la IC90 es menor de alrededor de 5 nM.

Por supuesto, los perfiles farmacológicos ventajosos de los anticuerpos pueden combinarse
20 de modo que los anticuerpos exhiban una K_D ventajosa y valores ventajosos de IC50 y/o IC90 para las diversas propiedades evaluadas.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden:

- fijarse a TRDV1 humana (SEQ ID NO: 272 o 306) con una afinidad de fijación (K_D , por
25 ejemplo, medida mediante resonancia de plasmones superficiales) menor de alrededor de 100 nM (preferentemente, menor de alrededor de 50 nM);
- fijarse opcionalmente a TRDV1 de *Macaca fascicularis* (SEQ ID NO: 308) con una afinidad de fijación (K_D , por ejemplo, medida mediante resonancia de plasmones superficiales) menor de alrededor de 100 nM (preferentemente, menor de alrededor de 50 nM);
- tener una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 50 nM
30 (preferentemente, menor de alrededor de 10 nM);

- tener una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM) y
- tener una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

En algunas formas de realización, en particular las relacionadas con el linaje ADT1-4, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos pueden:

- fijarse a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 100 nM (preferentemente, menor de alrededor de 50 nM);
- fijarse a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con una K_D menor de alrededor de 100 nM (preferentemente, menor de alrededor de 50 nM);

tener una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 50 nM (preferentemente, menor de alrededor de 10 nM) y una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 100 nM (menor de alrededor de 50 nM);

- tener una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM)

tener una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

En algunas formas de realización, por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos relacionados con, o derivados de, el linaje ADT1-4 (pero sin incluir ADT1-4-138), los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden:

- fijarse a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM);

fijarse a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con una K_D menor de alrededor de 100 nM (preferentemente menor de alrededor de 50 nM);

tener una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 1 nM (preferentemente, menor de alrededor de 0,5 nM) y una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (menor de alrededor de 5 nM);

- tener una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM)

tener una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

En algunas formas de realización, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos relacionados con, o derivados de, los miembros del linaje ADT1-4 ADT1-4-19, ADT1-4-21, ADT1-4-31, ADT1-4-53, ADT1-4-2, ADT1-4-86, ADT1-4-112, ADT1-4-143 y/o

ADT1-4-1, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden:

- fijarse a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM);
- 5 • fijarse a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con una K_D menor de alrededor de 50 nM;
- tener una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 1 nM (preferentemente, menor de alrededor de 0,5 nM) y una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (menor de alrededor de 5 nM);
- tener una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM
- 10 (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM)
- tener una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

En algunas formas de realización, en particular las relacionadas con el linaje ADT1-7, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos pueden:

- fijarse a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM);
- 15 • tener una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 50 nM (preferentemente menor de alrededor de 10 nM);
- tener una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM)
- 20 • tener una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

En algunas formas de realización, en particular las relacionadas con los linaje ADT1-7 ADT1-7-20 o ADT1-7-3, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos pueden:

- fijarse a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM);
- 25 • tener una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM);
- tener una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM);
- tener una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 5 nM
- 30 (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM)
- tener una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM

(preferentemente, menor de alrededor de 5 nM);

Propiedades farmacológicas de los anticuerpos del linaje ADT1-4

5 Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-105 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 1 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 50 nM.

10 Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-107 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 1 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 50 nM.

15 Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-110 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 1 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 50 nM.

20 Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-112 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 1 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 50 nM. Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC_{50} para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de 0,5 nM) y/o una IC_{90} para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC_{50} para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM) y/o una IC_{90} para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM (preferentemente, menor de alrededor de 10 nM).

30 Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-117 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de

identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 1 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 50 nM.

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-19 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes
5 que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de
identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 1 nM
(preferentemente menor de alrededor de 0,5 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca
fascicularis* menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 5 nM).
Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC50 para la regulación
10 descendente de TCR menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de
0,5 nM) y/o una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM
(preferentemente, menor de alrededor de 1 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o
adicionalmente una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM
(preferentemente, menor de alrededor de 5 nM) y/o una IC90 para la inactivación de células
15 THP-1 menor de alrededor de 50 nM (preferentemente, menor de alrededor de 10 nM).

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-21 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes
que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de
identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM
(preferentemente menor de alrededor de 1 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca
20 fascicularis* menor de alrededor de 50 nM (preferentemente menor de alrededor de 10 nM).
Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC50 para la regulación
descendente de TCR menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de
0,5 nM) y/o una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM
(preferentemente, menor de alrededor de 1 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o
25 adicionalmente una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM
(preferentemente, menor de alrededor de 5 nM) y/o una IC90 para la inactivación de células
THP-1 menor de alrededor de 50 nM (preferentemente, menor de alrededor de 10 nM).

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-31 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes
que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de
30 identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM
(preferentemente menor de alrededor de 1 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca*

fascicularis menor de alrededor de 50 nM (preferentemente menor de alrededor de 10 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de 0,5 nM) y/o una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM) y/o una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-139 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 1 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 50 nM.

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-4 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 1 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 50 nM.

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-143 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 1 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 50 nM (preferentemente menor de alrededor de 10 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de 0,5 nM) y/o una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 5 nM) y/o una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-53 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes

que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 1 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 50 nM (preferentemente menor de alrededor de 10 nM).

- 5 Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de 0,5 nM) y/o una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM
- 10 (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM) y/o una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM (preferentemente, menor de alrededor de 10 nM).

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-173 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM

15 (preferentemente menor de alrededor de 1 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 50 nM.

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-2 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 1 nM

20 (preferentemente menor de alrededor de 0,5 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 5 nM).

Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de 0,5 nM) y/o una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM

25 (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 5 nM) y/o una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM (preferentemente menor de alrededor de 10 nM).

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-8 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes

30 que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM

(preferentemente menor de alrededor de 1 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 50 nM.

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-82 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 1 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 50 nM.

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-83 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 1 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 50 nM.

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-3 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 1 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 50 nM.

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-84 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 1 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 50 nM.

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-86 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 1 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 50 nM (preferentemente menor de alrededor de 10 nM).

Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC_{50} para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de 0,5 nM) y/o una IC_{90} para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o

adicionalmente una IC₅₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM) y/o una IC₉₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM (preferentemente, menor de alrededor de 10 nM).

5 Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-95 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 1 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 50 nM.

10 Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-1 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 1 nM (preferentemente, menor de alrededor de 0,5 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM).

15 Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC₅₀ para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 1 nM (preferentemente, menor de alrededor de 0,5 nM) y/o una IC₉₀ para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC₅₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM) y/o una IC₉₀ para la inactivación de células
20 THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM).

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-6 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 5 nM) y/o una K_D para TRDV1 de *Macaca fascicularis* menor de alrededor de 10 nM (preferentemente menor de alrededor de 1 nM).
25 Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC₅₀ para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 1 nM (preferentemente, menor de alrededor de 0,5 nM) y/o una IC₉₀ para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o

30 adicionalmente una IC₅₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM) y/o una IC₉₀ para la inactivación de células

THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM).

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-4-138 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 100 nM (preferentemente, menor de alrededor de 50 nM) y/o una K_D para TRDV1 de Macaca fascicularis menor de alrededor de 100 nM (preferentemente, menor de alrededor de 50 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC_{50} para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 50 nM (preferentemente, menor de alrededor de 10 nM) y/o una IC_{90} para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 100 nM (preferentemente, menor de alrededor de 50 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC_{50} para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM) y/o una IC_{90} para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM (preferentemente, menor de alrededor de 10 nM).

15 **Propiedades farmacológicas de los anticuerpos del linaje ADT1-7**

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-7-10 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM).

20 Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-7-15 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM).

25 Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-7-17 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM).

30 Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-7-18 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM).

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-7-19 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM).

- 5 Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-7-20 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC_{50} para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 5 nM
- 10 (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM) y/o una IC_{90} para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC_{50} para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM) y/o una IC_{90} para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM
- 15 (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM).

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-7-22 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM).

- 20 Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-7-23 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM).

- 25 Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-7-42 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM).

- Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-7-3 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de
- 30 identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o

adicionalmente una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM) y/o una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM) y/o una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM).

Los anticuerpos de, o derivados de, ADT1-7-61 (por ejemplo, fragmentos de estos, variantes que tienen una o más sustituciones de aminoácidos o que tienen cierto porcentaje de identidad con estos) pueden tener una K_D para TRDV1 humana menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente tener una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 50 nM (preferentemente, menor de alrededor de 10 nM). Tales anticuerpos pueden tener alternativa o adicionalmente una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM) y/o una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

Otras propiedades funcionales de los anticuerpos

Los anticuerpos de la presente invención tienen un perfil funcional ventajoso. En particular, a diferencia de los anticuerpos anti-V δ 1 del estado de la técnica que se enfocan en la disminución de linfocitos T V δ 1, los anticuerpos de la presente invención son útiles para la activación de linfocitos T V δ 1. A pesar de que pueden causar regulación descendente de los TCR en linfocitos T a los que se fijan, no ocasionan disminución de linfocitos T V δ 1, sino que estimulan los linfocitos T y por lo tanto pueden ser útiles en entornos terapéuticos que podrían beneficiarse de la activación de este compartimento de linfocitos T. La activación de los linfocitos T V δ 1 es evidente a través de la regulación descendente de TCR, cambios en los marcadores de activación tales como CD25 y Ki67, y marcador de desgranulación CD107a. A su vez, la activación de los linfocitos T V δ 1 activa la liberación de citocinas inflamatorias tales como INF γ y TNF α para promover la licencia inmunitaria. Sorprendentemente, los anticuerpos que tienen adecuadamente alta afinidad para TRDV1 producen inactivación aumentada de linfocitos T V δ 1 y, a diferencia de (por ejemplo) los anticuerpos que se dirigen a CD3, la provisión de anticuerpos de alta afinidad es posible sin los efectos adversos asociados con la

activación a gran escala a través de CD3. A su vez, los anticuerpos de alta afinidad pueden inducir efectos inmunoestimuladores fuertes a través de linfocitos que infiltran tumores (TIL). Esto se puede lograr con agotamiento o inactivación mínima de las células V δ 1. Por lo tanto, los anticuerpos de la presente invención pueden considerarse anticuerpos agonistas.

5 En una forma de realización de la invención, se proporciona un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este que se caracteriza porque:

- a) causa la regulación descendente de TCR en los linfocitos T V δ 1;
- b) no exhibe CDC o ADCC; y
- c) no agota los linfocitos T V δ 1.

10 En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmentos de fijación al antígeno también estimular la proliferación de linfocitos T V δ 1.

Los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos pueden definirse adicionalmente como que se fijan a TRDV1 humana (SEQ ID NO: 272 o 306) con una afinidad de fijación (K_D , por ejemplo, medida mediante resonancia de plasmones superficiales) menor de alrededor de

15 10 nM, preferentemente menor de alrededor de 5 nM.

Los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos pueden definirse adicionalmente como que tienen los valores de K_D , IC50 y/o IC90 ventajosos analizados anteriormente.

El agotamiento de los linfocitos T es el proceso de reducción o eliminación por muerte de los

linfocitos T. Las referencias a que los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno no
 20 agotan los linfocitos T V δ 1 se refieren a un agotamiento menor de alrededor de 30 % o menor de alrededor de 20 % (preferentemente, menor de alrededor de 10 %) de la población de linfocitos T+ V δ 1 viables cuando es incubada por uno o más de los anticuerpos de la invención como se describen en la presente (por ejemplo, cuando los anticuerpos se proporcionan como un anticuerpo contra IgG1), y según lo medido mediante cualquier medio
 25 adecuado en un estudio controlado (por ejemplo, mediante metodología de citometría de flujo controlada u otros ensayos controlados establecidos, tal como se describe en la Figura 41 y en la Figura 55).

ADCC y CDC son mecanismos mediante los cuales puede producirse el agotamiento de linfocitos T. La referencia a que los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de la
 30 presente no causan ADCC o CDC se refiere a un agotamiento menor de alrededor de 30 % o menor de alrededor de 20 % (preferentemente, menor de alrededor de 10 %) de la población

de linfocitos T+ V δ 1 viables mediante ADCC y/o CDC cuando es incubada por uno o más de los anticuerpos de la invención como se describen en la presente (por ejemplo, cuando los anticuerpos se proporcionan como un anticuerpo contra IgG1), según lo medido mediante cualquier medio adecuado (por ejemplo, mediante metodología de citometría de flujo controlada u otros ensayos controlados establecidos, tal como se describe en la Figura 41).

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este que se caracteriza porque no induce la secreción de IL-17A. IL-17A (interleucina-17A) es una citocina protumorigénica producida por los linfocitos T activados. IL-17A puede potenciar el crecimiento tumoral y disminuir la respuesta inmunitaria antineoplásica. Como se muestra en la **Figura 63, G a I**, los anticuerpos anti-V δ 1 no inducen la secreción de IL-17A cuando se agregan a una población de células que comprenden linfocitos humanos que incluyen células V δ 1+ve, mientras que los anticuerpos anti-CD3 de comparación, tales como OKT 3, sí inducen IL17A en dichas circunstancias. Por lo tanto, la referencia a que los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de la presente no inducen la secreción de IL-17A se refiere a una inducción menor de alrededor de 30 %, menor de alrededor de 20 % o menor de alrededor de 10 % de la secreción de IL-17A inducida por anticuerpos anti-CD3 de comparación en dichas circunstancias (como se tipifico mediante OKT 3; el anti-CD3 comparativo empleado en las **Figuras 63 G a I**).

Modificaciones de anticuerpos

Los anticuerpos y fragmentos de estos se pueden modificar de otras maneras mediante el uso de métodos conocidos. Las personas del oficio de nivel medio pueden incorporar fácilmente modificaciones de secuencia en las moléculas de anticuerpos descritas en la presente. Los siguientes ejemplos no son limitativos.

Durante el descubrimiento de anticuerpos y la recuperación de secuencias de colecciones de fagos, los dominios variables de anticuerpos deseados pueden reformatearse en IgG de longitud completa mediante subclonación. Para acelerar el proceso, los dominios variables a menudo se transfieren mediante el uso de enzimas de restricción. Estos sitios de restricción únicos pueden introducir aminoácidos adicionales/alternativos y alejarse de la secuencia canónica (tales secuencias canónicas pueden encontrarse, por ejemplo, en el sistema de información internacional ImMunoGeneTics [IMGT]; ver <http://www.imgt.org>). Estos pueden introducirse como modificaciones de secuencia de cadena liviana kappa o lambda.

Modificaciones de cadena liviana

Las secuencias variables de cadena liviana variable se pueden clonar mediante el uso de sitios de restricción (por ejemplo, Nhe1-Not1) durante el reformato en IgG de longitud completa. Más específicamente, en el terminal N de la cadena liviana, se introdujo una

5 secuencia Ala-Ser adicional en los anticuerpos parentales (sin maduración de afinidad) para sustentar la clonación. Preferentemente, esta secuencia de AS adicional luego se elimina durante el desarrollo adicional tal como para generar la secuencia de terminal N canónica. Por lo tanto, en algunas formas de realización, la cadena liviana que contiene anticuerpos descritos en la presente no contiene una secuencia de AS en su terminal N, es decir, SEQ ID

10 NO: 26, 118, 282 a 290 o 313 no comprende la secuencia AS inicial. Los terminales N de las secuencias de cadena liviana de los anticuerpos con maduración de afinidad no comprenden ya este motivo AS.

Se pueden realizar cambios adicionales de aminoácidos para sustentar la clonación. Por ejemplo, para los anticuerpos parentales descritos en la presente que tienen cadenas livianas

15 kappa (es decir, B07, C05, E04, F07, G06, G09, B09, G10, G04 y E07), en el límite de dominio variable/dominio constante de la cadena liviana kappa, se introdujo un cambio de valina a alanina para sustentar la clonación al momento de preparar secuencias de longitud completa. Esto dio como resultado una modificación del dominio constante kappa. Específicamente, esto dio como resultado que el dominio constante comience como

20 RTAAAPS (desde un sitio de restricción NotI). Preferentemente, tales secuencias pueden modificarse durante un desarrollo adicional para generar las regiones constantes de cadena liviana kappa canónica que comienzan con RTVAAPS. Tales modificaciones no cambian las propiedades funcionales de los anticuerpos. Por lo tanto, en algunas formas de realización, la cadena liviana kappa que contiene anticuerpos descritos en la presente contiene un dominio

25 constante que inicia con la secuencia RTV (por ejemplo, como en SEQ ID NO: 296).

Como otro ejemplo, para los anticuerpos descritos en la presente (específicamente E01 y C08), en el límite de dominio variable/dominio constante de la cadena liviana lambda, se introdujo un cambio de secuencia de lisina a alanina para sustentar la clonación. Esto dio como resultado una modificación del dominio constante lambda. Específicamente, esto dio

30 como resultado que el dominio constante comience como GQPAAAPS (desde un sitio de restricción NotI). Preferentemente, esta secuencia puede modificarse durante un desarrollo

adicional para generar la región constante liviana λ canónica que comienza con GQPKAAPS. Por lo tanto, en algunas formas de realización, los anticuerpos que contienen la cadena liviana λ descritos en la presente contienen un dominio constante que inicia con la secuencia GQPK.

5 **Modificaciones de cadena pesada**

Habitualmente, las secuencias de cadena pesada variable humana inician con la glutamina básica (Q) o el glutamato ácido (E). Sin embargo, se sabe que estas dos secuencias luego se convierten en el residuo de aminoácido ácido, piroglutamato (pE). La conversión de Q en pE da como resultado un cambio de carga en el anticuerpo, mientras que una conversión de E en pE no cambia la carga del anticuerpo. Por lo tanto, para evitar un cambio de carga variable a lo largo del tiempo, una opción es modificar una secuencia de cadena pesada de inicio de Q a E en primera instancia. Por lo tanto, en una forma de realización, la cadena pesada de anticuerpo descrito en la presente que tiene un residuo Q en el terminal N de la cadena pesada puede contener una modificación de Q a E en el terminal N. En particular, el residuo inicial de cualquiera de SEQ ID NO: 1, 106, 276 a 279 o 312 puede modificarse de Q a E. Se entenderá que esta forma de realización también aplica para cualquier forma de realización que incorpore estas secuencias, por ejemplo, en anticuerpos de longitud completa o fragmentos de fijación al antígeno de estos. En algunas formas de realización, puede ser ventajoso sustituir un residuo E en el terminal N de la cadena pesada por un residuo E. En consecuencia, en algunas formas de realización, el residuo E en el terminal N de cualquiera de SEQ ID NO: 2 a 25, 107 a 117, 273 a 275, 280 o 281 puede sustituirse con un residuo Q. Además, el terminal C del dominio constante de IgG1 finaliza con PGK. Sin embargo, la lisina básica (K, posición EU 447) terminal a menudo se escinde luego durante la expresión (por ejemplo, en células CHO). Esto a su vez da como resultado un cambio de carga en el anticuerpo mediante la pérdida variada del residuo de lisina del terminal C. Por lo tanto, una opción es eliminar la lisina en la primera instancia, lo que da como resultado en una secuencia del terminal C de cadena pesada uniforme y consistente que finaliza en PG. Una opción alternativa es también eliminar la G terminal (posición EU 446). Por lo tanto, en una forma de realización, en la cadena pesada de un anticuerpo descrito en la presente, la K terminal, o la GK terminal, está eliminada de su terminal C.

En algunas formas de realización, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este

contiene una función efectora modificada a través de la alteración de los azúcares ligados a Asn 297 (esquema de numeración EU). En dicha modificación adicional, Asn 297 no está fucosilado o exhibe fucosilación reducida (es decir, un anticuerpo defucosilado o un anticuerpo no fucosilado). La fucosilación incluye la adición del azúcar fucosa a una molécula, por ejemplo, la unión de fucosa a N-glicanos, O-glicanos y glicolípidos. En consecuencia, en un anticuerpo defucosilado, la fucosa no está unida a las cadenas de carbohidratos de la región constante. El anticuerpo puede estar modificado para prevenir o inhibir la fucosilación del anticuerpo. Por lo general, las modificaciones de glicosilación implican expresar dicho anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este en una célula huésped que contiene capacidades alternativas de procesamiento de glicosilación ya sea a través de diseño por ingeniería genética o selección de huéspedes o clones dirigida o fortuita (por ejemplo, ver el Ejemplo 13). Estas y otras modificaciones efectoras se analizan adicionalmente en reseñas recientes, tales como la de Xinhua Wang *et al.* (2018) *Protein & Cell* 9: 63-73 y Pereira *et al.* (2018) *mAbs* 10(5): 693-711, que se incorporan en la presente.

15 **Modificaciones de alotipo opcionales**

En el descubrimiento de anticuerpos, se pueden emplear alotipos humanos específicos. Opcionalmente, los anticuerpos se pueden cambiar a alotipos humanos distintos durante el desarrollo. A modo de ejemplo no limitativo, para la cadena kappa existen tres alotipos humanos denominados Km1, Km1,2 y Km3 que definen tres alelos Km (mediante numeración de alotipo): Km1 se correlaciona con valina 153 (IMGT V45,1) y leucina 191 (IMGT L101); Km1,2 se correlaciona con alanina 153 (IMGT A45,1) y leucina 191 (IMGT L101); y Km3 se correlaciona con alanina 153 (IMGT A45,1) y valina 191 (IMGT V101). Por lo tanto, se puede modificar opcionalmente una secuencia de un alotipo a otro mediante enfoques de clonación estándar. Por ejemplo, un cambio de L191V (IMGT L101V) convertirá un alotipo Km1,2 en un alotipo Km3. Para referencias adicionales acerca de dichos alotipos, ver Jefferis y Lefranc (2009) *MAbs* 1(4):332-8, que se incorpora en la presente por referencia.

Por lo tanto, en una forma de realización, un anticuerpo descrito en la presente contiene sustituciones de aminoácidos derivadas de otro alotipo humano del mismo gen. En una forma de realización adicional, el anticuerpo contiene una sustitución L191V (IMGT L101V) en la cadena kappa para convertir el dominio c de un alotipo km1,2 en un alotipo km3.

Anticuerpos multiespecíficos

Los anticuerpos de la presente invención pueden ser monoespecíficos. En algunas formas de realización, los anticuerpos no son anticuerpos multiespecíficos. En algunas formas de realización, los anticuerpos no son anticuerpos biespecíficos. Sin embargo, la presente invención también proporciona anticuerpos multiespecíficos. Por lo tanto, los anticuerpos pueden fijarse a dianas adicionales y, por lo tanto, pueden ser biespecíficos o multiespecíficos. Los anticuerpos multiespecíficos pueden ser específicos para diferentes epítomos de un polipéptido diana o pueden ser específicos para más de un polipéptido diana. Por lo tanto, en una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este comprende una primera especificidad de fijación a V δ 1 y una segunda especificidad de fijación para un segundo epítomo o antígeno diana.

En particular, la presente invención proporciona una nueva clase de anticuerpos multiespecíficos que se dirigen a una cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T (TCR) $\gamma\delta$ y un segundo antígeno. El segundo antígeno puede ser, por ejemplo, un antígeno de cáncer o un antígeno asociado al cáncer (tal como un TAA), por lo que el anticuerpo puede denominarse acopladores de linfocitos T (TCE). Alternativamente, el segundo antígeno puede ser, por ejemplo, un antígeno inmunomodulador, y, por ende, el anticuerpo puede ser un anticuerpo de inmunomodulación doble. Por lo tanto, los anticuerpos multiespecíficos de la presente invención pueden dividirse en dos clases. Los primeros son anticuerpos multiespecíficos que son acopladores de linfocitos T. Los segundos son anticuerpos multiespecíficos que son inmunomoduladores dobles (DI).

Los TCE de la presente invención proporcionan varias ventajas en comparación con los TCE del estado de la técnica. En particular, los TCE pueden superar muchos de los desafíos asociados con los TCE del estado de la técnica al dirigir el complejo de receptor de linfocitos T mediante un mecanismo completamente novedoso y diferente. En efecto, al dirigir (y activar) específicamente el complejo de receptor de linfocitos T solamente a través de la fijación a un epítomo en el dominio de TRDV1, se logran varias ventajas, que incluyen:

- acoplar solo un subconjunto de linfocitos T en lugar de *todos* los linfocitos T (por ejemplo, el acoplamiento de T-reg en un entorno de cáncer puede no ser conveniente);
- acoplar solo un subconjunto de linfocitos T (linfocitos T TRDV1+) que “residen en el tejido” predominantemente y cuya presencia se correlaciona a menudo positivamente con un buen pronóstico en un entorno de cáncer/tumor;

- activar el complejo de receptor de linfocitos T mediante el acoplamiento de TRDV1, lo que permite mayor opcionalidad (por ejemplo, aumentar la afinidad de este dominio de fijación, como en los anticuerpos de la presente invención). Por ejemplo, al desarrollar TCE recombinantes que se acoplan a un complejo de receptor de linfocitos T solamente a través del dominio de TRDV1 en lugar de a través de CD3, una mayor afinidad puede impulsar una funcionalidad más favorable. Por ejemplo, los TCE que se fijan a TRDV1 con alta afinidad pueden activar pero no agotar los linfocitos T; y/o
- acoplar el complejo de TCE mediante dichos medios novedosos y a través de dominios de fijación a TRDV1 recombinantes puede dar como resultado efectos menos perjudiciales y reducir así la necesidad de atenuar la funcionalidad de Fc en dichas porciones de TCE. Se esperaría generalmente que un TCE con una función de Fc no atenuada induciría un efecto de citotoxicidad mediada por células dependiente del anticuerpo (ADCC) y agotaría así la población de linfocitos T $\gamma\delta$ reconocidos por el anticuerpo. Sin embargo, y nuevamente, al atenuar tal funcionalidad para evitar las complejidades de toxicidad/seguridad, también se puede atenuar ángulos de eficacia potencialmente importantes, por ejemplo, al acoplar células inmunitarias CD16+ o CD32+ o CD64+, o al reducir la semivida del biespecífico (por ejemplo, si se emplean fragmentos más pequeños de anticuerpo biespecífico, tales como BITE). Se esperaría que los métodos para reducir la interacción del Fc γ R y el TCE (tal como el uso de un formato IgG diseñado para reducir dicha interacción) reduzcan la inmovilización mediada por Fc del TCE y reduzcan el agrupamiento de TCR mediante reticulación con el TCE inmovilizado. Reducir la necesidad de atenuar la funcionalidad de Fc en dichas porciones de TCE puede proporcionar una opcionalidad adicional, por ejemplo, al permitir que TCE de TRDV1 se acople a las células TRDV1+ a través de un dominio de fijación, al acoplarse a un segundo tipo celular (tal como una célula cancerosa) a través de un segundo brazo de fijación, y al acoplarse con otras células efectoras tales como células inmunitarias CD16+ o CD32+ o CD64+ a través de un dominio Fc en funcionamiento.
- Activar el TCR V δ 1 sin disminuir los linfocitos T V δ 1+. Los anticuerpos descritos en la presente pueden entonces acoplar y activar el complejo CD3/TCR $\gamma\delta$ y otorgar su regulación descendente y pérdida de la expresión superficial, sin disminución indeseada de linfocitos T V δ 1 (ver **Figura 55**). Esto permite que los anticuerpos descritos en la presente se utilicen como medicamentos para tratar una enfermedad o un trastorno para mejorar al menos un

signo o síntoma de una enfermedad o trastorno a través de un mecanismo que implica la activación de linfocitos T V δ 1+ que residen en sangre, tejido y tumor.

Por lo tanto, mediante los descubrimientos descritos en la presente, los presentes inventores generaron una clase novedosa de TCE recombinantes. Específicamente, los presentes inventores descubrieron una nueva clase de TCE que se acoplan al receptor de linfocitos T a través de un dominio de TRDV1 en lugar de otros dominios en dichos complejos de señalización del receptor de linfocitos T. Más específicamente, los presentes inventores descubrieron una nueva clase de TCE que se acoplan a este complejo a través de un epítipo activador en TRDV1 y que se pueden fijar con mayores afinidades sin conferir potencialmente algunos de los efectos perjudiciales informados anteriormente del acoplamiento del complejo de receptor de linfocitos T con alta afinidad. Además, esta nueva clase de TCE puede acoplarse de un modo que podría permitir también la funcionalidad de Fc de tipo silvestre, lo que permite también un potencial de eficacia adicional.

Los DI de la presente invención proporcionan un método completamente novedoso de acoplamiento a la diana de inmunomodulación doble que es completamente único y que proporciona un enorme rango posible de tratamientos novedosos que requieren inmunomodulación, tal como cáncer. La plataforma de DI de la presente invención proporciona una nueva clase de agentes terapéuticos que pueden proporcionar una alternativa importante a los enfoques de DI existentes o una mejora importante de estos. No se contempló anteriormente que una función de fijación específica de TRDV1 como se describe en la presente podría incorporarse en un formato de DI.

Los anticuerpos multiespecíficos de la invención también pueden presentar propiedades mejoradas en comparación con los anticuerpos monoespecíficos equivalentes. Por ejemplo, los anticuerpos multiespecíficos de la invención también pueden presentar propiedades mejoradas en comparación con los anticuerpos monoespecíficos que tienen los mismos dominios de fijación al antígeno que las partes componentes de los anticuerpos multiespecíficos. En algunas formas de realización, por ejemplo, el anticuerpo multiespecífico recombinante confiere una mayor citotoxicidad mediada por linfocitos T gamma delta hacia una célula enferma que expresa el segundo epítipo en comparación con la citotoxicidad conferida por una cantidad equivalente de dicho primer anticuerpo monoespecífico. Los anticuerpos multiespecíficos de la invención también pueden presentar una mejor citotoxicidad

hacia células enfermas mientras preservan las células sanas.

La identidad del segundo antígeno determina si el anticuerpo está en una de dos categorías, como se analizan en la presente: un anticuerpo acoplador de linfocitos T (TCE) o un anticuerpo de inmunomodulación doble (DI).

- 5 En las formas de realización relacionadas con TCE, el segundo antígeno es un antígeno de cáncer o un antígeno asociado al cáncer. En tales formas de realización, los anticuerpos se fijan específicamente a un primer epítipo diana, en donde el primer epítipo diana es un epítipo de la cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T (TCR) $\gamma\delta$; y un
- 10 segundo epítipo diana, en donde el segundo epítipo diana es un epítipo de un antígeno de cáncer o antígeno asociado al cáncer. Se analizan en la presente las identidades de posibles segundos antígenos específicos en esta categoría. Sin embargo, el segundo antígeno puede ser cualquier antígeno expresado por una célula cancerosa que promueva la inactivación
- 15 mediada por linfocitos T V δ 1 de dicha célula cancerosa (por ejemplo, inactivación directa o mediante efecto de licencia inmunitaria de señalización a otras células inmunitarias tras la fijación a la célula tumoral). Dicha inactivación de células cancerosas mediada por células V δ 1 es promovida por la colocación de los linfocitos T V δ 1 y las células cancerosas, y la activación de los linfocitos T V δ 1 a través de la fijación del anticuerpo multiespecífico, en particular a un epítipo activador del linfocito T V δ 1. La presente invención ejemplifica una
- 20 plataforma completamente novedosa para anticuerpos de tipo TCE.
- 25 En algunas formas de realización, el segundo antígeno no es un antígeno de un carcinoma de ovario. En algunas formas de realización, el segundo antígeno no es un antígeno de un carcinoma de ovario Mov19+. En algunas formas de realización, el anticuerpo multiespecífico (adecuadamente biespecífico) no se fija específicamente a células de carcinoma de ovario Mov19+. En algunas formas de realización, el anticuerpo multiespecífico (adecuadamente biespecífico) no se fija específicamente al receptor de folato alfa (alfa-FR). Alfa-FR también se denomina receptor de folato 1, FOLR1, receptor de folato alfa o FR α . Lo codifica el gen FOLR1 (N.º de acceso UniProt P15328) y tiene la secuencia de SEQ ID NO: 390. En algunas formas de realización, el anticuerpo multiespecífico (adecuadamente biespecífico) no se fija específicamente a un epítipo fijado a scFv MOV19.
- 30 En algunas formas de realización, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este es un anticuerpo biespecífico, en donde el segundo antígeno no es un receptor de folato alfa.

En algunas formas de realización el anticuerpo multiespecífico es un anticuerpo recombinante humano codificado por uno o más marcos de lectura abiertos de ácidos nucleicos recombinantes expresados a partir de una célula huésped recombinante. En algunas formas de realización, el anticuerpo multiespecífico no es un anticuerpo de roedor u otro anticuerpo no humano derivado mediante tecnologías de hibridoma con fusión de linfocitos B. En algunas formas de realización, el anticuerpo multiespecífico no comprende una secuencia de dominio constante de IgG no humana encontrada solo en especies animales no humanas, tal como una secuencia encontrada en hibridomas derivados de roedor.

En las formas de realización relacionadas con DI, el segundo antígeno es un antígeno inmunomodulador. En tales formas de realización, los anticuerpos se fijan específicamente a un primer epítipo diana, en donde el primer epítipo diana es un epítipo de la cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T (TCR) $\gamma\delta$; y un segundo epítipo diana, en donde el segundo epítipo diana es un antígeno inmunomodulador. Un “antígeno inmunomodulador” es un antígeno que modula (por ejemplo, promueve) la inmunidad mediada por anticuerpos y/o células. Un antígeno inmunomodulador es uno que está presente en la superficie celular de un linfocito T. En las formas de realización de la invención en las que el segundo antígeno es un antígeno inmunomodulador, el segundo antígeno no es el receptor de linfocitos T o un componente de los complejos de receptor de linfocitos T. Por ejemplo, en las formas de realización de la invención en las que el segundo epítipo es un epítipo de un antígeno inmunomodulador, el segundo epítipo no es un epítipo de TRDV1. En formas de realización preferidas de la invención en las que el segundo epítipo es un epítipo de un antígeno inmunomodulador, el segundo epítipo no es un epítipo del complejo de receptor de linfocitos T. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el segundo epítipo no es un epítipo de CD3. Por lo tanto, los anticuerpos de estas formas de realización son “inmunomoduladores dobles” ya que se fijan específicamente a los linfocitos T a través de TRDV1 y pueden fijarse adicionalmente a los linfocitos T a través de un segundo epítipo diferente, en donde el epítipo no es un epítipo del complejo de receptor de linfocitos T. Los segundos antígenos de ejemplo incluyen, por ejemplo, los inhibidores del punto de control inmunitario PD-L1, PD-1, OX40, CTLA-4, LAG-3, TIM-3, TIGIT y VISTA. Por ejemplo, los tumores sólidos reclutan células inmunosupresoras tales como células supresoras derivadas de mieloides (MDSC), macrófagos asociados a tumores (TAM) y linfocitos T reguladores (Treg), todos los cuales

inhiben la actividad de los linfocitos T citotóxicos. Por lo tanto, el uso más eficaz de DI en tumores sólidos requerirá probablemente el uso de porciones multiespecíficas para dirigir las vías de modulación de linfocitos T en combinación para ayudar a superar el TME inmunosupresor y transformar un tumor “frío” con exclusión inmunitaria o abandonado en términos inmunitarios en uno “caliente” inflamado. Sin embargo, la presente invención no se limita a segundos antígenos inmunomoduladores específicos, ya que presenta una plataforma completamente novedosa para anticuerpos de tipo DI.

En formas de realización preferidas, los anticuerpos multiespecíficos (adecuadamente anticuerpos biespecíficos) de la invención no se fijan específicamente a (o interactúan directamente con) CD3. En formas de realización preferidas, el segundo antígeno no es CD3.

En algunas formas de realización, el segundo antígeno no es un receptor de folato alfa o CD3.

En algunas formas de realización, el segundo epítipo diana está sobre un antígeno expresado por un linfocito T V δ 1+ (en particular un antígeno expresado sobre la superficie de un linfocito T V δ 1+). En otras formas de realización, el segundo epítipo diana está sobre un antígeno expresado por otra célula, es decir, una célula que no es un linfocito T V δ 1+ (en particular un antígeno expresado sobre la superficie de una célula que no es un linfocito T V δ 1+). Por ejemplo, el segundo antígeno puede ser expresado por una célula cancerosa.

Las referencias en la presente a que un antígeno está “sobre” una célula se refieren a antígenos que se expresan en la membrana de la superficie celular o que están asociados con (el lado extracelular de) la membrana de la superficie celular de tales células.

En diversas formas de realización, el segundo epítipo diana es un epítipo de un antígeno de cáncer o un antígeno asociado al cáncer. En diversas formas de realización, el antígeno de cáncer o el antígeno asociado a cáncer es uno seleccionado de AFP, AKAP-4, ALK, alfafetoproteína, receptor androgénico, B7H3, BAGE, BCA225, BCAA, Bcr-abl, beta-Catenina, beta-HCG, gonadotropina coriónica humana beta, BORIS, BTAA, CA 125, CA 15-3, CA 195, CA 19-9, CA 242, CA 27,29, CA 72-4, CA-50, CAM 17,1, CAM43, anhidrasa carbónica IX, antígeno carcinoembrionario, CD22, CD33/IL3Ra, CD68\P1, CDK4, CEA, condroitín sulfato proteoglicano 4 (CSPG4), c-Met, CO-029, CSPG4, ciclina B1, proteína asociada a la ciclofilina-C, CYP1B1, E2A-PRL, EGFR, EGFRvIII, ELF2M, EpCAM, EphA2, EphrinB2, antígenos del virus de Epstein Barr EBVA, ERG (gen de fusión TMPRSS2ETS), ETV6-AML, FAP, FGF-5, antígeno relacionado a Fos 1, Fucosil GM1, G250, Ga733\EpCAM, GAGE-1,

GAGE-2, GD2, GD3, antígeno asociado al glioma, GloboH, glicolípido F77, GM3, GP 100, GP 100 (Pmel 17), H4-RET, HER-2/neu, HER-2/Neu/ErbB-2, antígeno asociado al melanoma de alto peso molecular (HMW-MAA), HPV E6, HPV E7, hTERT, HTgp-175, telomerasa transcriptasa inversa humana, idiotipo, receptor de IGF-I, IGF-II, IGH-IGK, factor de crecimiento de insulina (IGF)-I, carboxil esterasa intestinal, K-ras, LAGE-1a, LCK, AFP reactivo a la lectina, legumaína, LMP2, M344, MA-50, proteína de fijación a Mac-2, MAD-CT-1, MAD-CT-2, MAGE, MAGE A1, MAGE A3, MAGE-1, MAGE-3, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6, MART-1, MART-1/MelanA, M-CSF, condroitín sulfato proteoglicano asociado al melanoma (MCSP), mesotelina, MG7-Ag, ML-IAP, MN-CA IX, MOV18, MUC1, Mum-1, hsp70-2, MYCN, MYL-RAR, NA17, NB/70K, antígeno neuroglial 2 (NG2), elastasa de neutrófilos, nm-23H1, NuMa, NY-BR-1, NY-CO-1, NY-ESO, NY-ESO-1, NY-ESO-1, OY-TES1, p15, p16, p180erbB3, p185erbB2, p53, p53 mutante, Page4, PAX3, PAX5, PDGFR-beta, PLAC1, ácido polisiálico, antígeno tumoral de carcinoma de próstata 1 (PCTA-1), antígeno específico de la próstata, fosfatasa ácida prostática (PAP), Proteinasa3 (PR1), PSA, PSCA, PSMA, RAGE-1, Ras, Ras mutante, RCAS1, RGS5, RhoC, ROR1, RU1, RU2 (AS), SART3, SDCCAG16, sLe(a), proteína de esperma 17, SSX2, STn, survivina, TA-90, TAAL6, a TAG-72, telomerasa, tiroglobulina, Tie 2, TLP, Tn, TPS, TRP-1, TRP-2, TRP-2, TSP-180, tirosinasa, VEGF, VEGFR2, VISTA, WT1, XAGE 1, 43-9F, 5T4 y 791Tgp72.

En algunas formas de realización, el segundo epítipo diana está en la subfamilia de ErbB. Erb-B1 (EGFR), Erb-B2 (HER2) son miembros de la subclase I de la superfamilia de receptores tirosina quinasa (RTK). En algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es un RTK. RTK comparten una estructura proteica similar que comprende un dominio de fijación a ligando extracelular y una sola hélice transmembrana. Predominantemente, se subdividen adicionalmente en subclases separadas por la naturaleza de su dominio tirosina quinasa (TKD) intracelular y una cola del terminal carboxilo (C). Las regiones de dominio extracelular de RTK exhiben diversos elementos conservados, incluso dominios similares a la inmunoglobulina (Ig) o el factor de crecimiento epidérmico (EGF). En algunas formas de realización, el segundo epítipo es un epítipo de un receptor tirosina quinasa. Los ejemplos de la familia de RTK incluyen VEGFR2, EGFR, c-MET, receptor de IGF-I, PDGFR-beta, CD115, CD117, CD140A, CD140B, CD167a, CD167b, CD172g, CD220, CD246, CD303, CD331, CD332, CD333 y CD340.

Por ejemplo, en algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es HER2 (receptor de factor de crecimiento epidérmico humano 2). HER2 (también denominado ErbB-2 o CD340) es un antígeno asociado al cáncer y es un ejemplo de un receptor tirosina quinasa, en la subfamilia de ErbB. La expresión de HER2 es baja en tejidos sanos, con aumentos de hasta 40-100 veces en la expresión en tipos de cáncer Her2+ en comparación con tejidos normales. La sobreexpresión de Her2 está asociada con muchos tipos de cáncer de mama, tipos de cáncer gástrico, tipos de cáncer de esófago, tipos de cáncer de ovario, tipos de cáncer de endometrio, NSCLC y tipos de cáncer colorrectal. En muchos tipos de cáncer, HER2 se dimeriza con otros receptores de ErbB y da como resultado la activación de diversas vías de señalización corriente abajo, lo que conduce a su vez a una proliferación descontrolada y a resistencia a la apoptosis. La sobreexpresión de HER2 se correlaciona con menores tasas de supervivencia, y es, por ende, una diana para mejorar el pronóstico, así como un marcador tumoral. En la técnica se conocen anticuerpos monoclonales que se fijan específicamente a epítipos de HER2. Por ejemplo, trastuzumab es un anticuerpo monoclonal que se fija específicamente a un epítipo de HER2.

En algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es EGFR. EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico) es un antígeno asociado al cáncer y es un ejemplo de un receptor tirosina quinasa, en la subfamilia de ErbB. EGFR se expresa en múltiples órganos y cumple una función importante en el inicio de la señalización que dirige el comportamiento de las células epiteliales y los tumores de origen epitelial. La señalización mediada por EGFR también está implicada en el control de la proliferación, migración, supervivencia y metástasis celulares al regular diversas vías celulares. Como con otros receptores tirosina quinasa, las mutaciones que afectan la actividad de EGFR o que conducen a la regulación ascendente de EGFR están asociadas con muchos tipos de cáncer. De hecho, se observan alteraciones genéticas en EGFR en hasta 30 % de los tumores sólidos y se las asocia por lo general con un mal pronóstico. La alteración de la señalización de EGFR, al inhibir la fijación de EGF al dominio extracelular o al inhibir la actividad de la tirosina quinasa intracelular, puede limitar el crecimiento del tumor que expresa EGFR. Por lo tanto, los inhibidores de EGFR pueden ser agentes antineoplásicos. En efecto, ciertas células tumorales dependen de la señalización de EGFR y poseen por ende una “adicción a oncogenes”, lo que hace que este receptor sea una diana atractiva para tratamiento. En la técnica se conocen anticuerpos monoclonales que se

fijan específicamente a epítopos de EGFR. Por ejemplo, cetuximab es un anticuerpo monoclonal que se fija específicamente a un epítipo de EGFR.

En algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es un epítipo de un antígeno de

linfocitos B. Los ejemplos de antígenos expresados particularmente en linfocitos B incluyen
 5 CD1d, CD5, CD10, CD11b, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD32A, CD32B CD37, CD39, CD40, CD45, CD52, CD72, CD79a, CD79b, CD138, CD166, CD179A, CD179B, CD180, CD185, CD150, CD213a1, CD213a2, CD217, CD244, CD255, CD229, CD232, CD267, CD268, CD269, CD274, CD277, CD279, CD290, CD300A, CD300C, CD305, CD307a, CD307b, CD307c, CD307d, CD307e, CD316, CD319, CD327, CD352 y CD361. Por

10 ejemplo, en algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es CD19. CD19 (cúmulo de diferenciación 19) es un antígeno asociado al cáncer. CD19 también es un ejemplo de una glicoproteína transmembrana tipo I en la superfamilia de inmunoglobulina. En algunas formas de realización, la segunda diana es un epítipo que está presente en un miembro de la superfamilia de inmunoglobulina (IgSF). Los ejemplos de esta familia incluyen CD2, CD3,

15 CD4, CD7, CD8, CD19, CD79A, CD79B, CD28, CD48, CD58, CD80, CD86, CD90, CD96, CD147, CD150, CD155, CD229, CD244, CD273, CD274, CD276. CD19 se expresa ampliamente en linfocitos B a lo largo de su desarrollo, y la densidad superficial de CD19 aumenta a medida que maduran los linfocitos B. CD19 está implicado en el reclutamiento de proteínas de señalización del citoplasma. CD19 también está implicado en las vías de

20 señalización del receptor de linfocitos B y es esencial para el funcionamiento del receptor de linfocitos B. Su expresión en los linfocitos B hace que sea una diana útil contra la leucemia y los linfocitos neoplásicos, así como un biomarcador de diagnóstico para tipos de cáncer que surgen de los linfocitos B. Las mutaciones de CD19 pueden conducir a una menor producción de anticuerpos e inmunodeficiencia, por lo que CD19 puede ser una diana en tratamientos de
 25 enfermedades autoinmunitarias. En la técnica se conocen anticuerpos monoclonales que se fijan específicamente a epítopos de CD19. Por ejemplo, blinatumomab es un anticuerpo monoclonal que se fija específicamente a un epítipo de CD19.

En algunas formas de realización, el segundo epítipo diana está presente sobre un antígeno del estroma tumoral. Los ejemplos de antígenos del estroma tumoral incluyen FAP alfa, CD29,

30 CD44, CD73, CD105 y CD166. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es FAP α (proteína de activación de fibroblastos α). FAP α es un antígeno

asociado al cáncer también denominado seprasa o prolil endopeptidasa FAP. Se expresa selectivamente en el estroma de una gama de carcinomas epiteliales. FAP α es un ejemplo de una serina proteasa de la superficie celular en la familia de dipeptidil peptidasa. FAP α es expresado por fibroblastos asociados al cáncer (CAF), que cumplen una función importante en el microentorno tumoral. Otras moléculas expresadas selectivamente en CAF incluyen CD10, CD90, CD140A y CD140B. En algunas formas de realización, el segundo epítipo es un epítipo que está presente en una molécula expresada selectivamente en CAF. Más de 90 % de los tipos de cáncer epitelial (tipos de cáncer de mama, piel CRC y páncreas) expresan FAP α sobre la superficie de los CAF en el estroma circundante. Los CAF segregan la quimiocina CXCL12 que se fija a CXCR4 sobre los linfocitos T y es inmunosupresora. FAP α se expresa en líneas celulares de melanoma agresivo y aumenta significativamente en pacientes con cáncer de mama con resultados y supervivencia deficientes. FAP α tiene actividades tanto de collagenasa como de dipeptidasa y promueve el crecimiento, migración, invasión, metástasis y degradación de ECM tumorales. Los tejidos adultos sanos normales no tienen expresión de FAP α detectable fuera de las áreas de remodelación de tejidos o cicatrización de heridas y, por lo tanto, FAP α es una diana antineoplásica prometedora debido a su expresión casi exclusiva en el estroma tumoral y el rol directo de FAP α en diversos aspectos de la progresión del cáncer. En la técnica se conocen anticuerpos monoclonales que se fijan específicamente a epítopos de FAP α . Por ejemplo, sibrotuzumab es un anticuerpo monoclonal que se fija específicamente a un epítipo de FAP α .

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico comprende un componente de fijación a FAP α que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 458, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 459 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 460; y una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 461, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 462 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 463. En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico comprende un componente de fijación a FAP α que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 456 y una VL que comprende o

consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 457. En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a FAP α y comprende SEQ ID NO: 402.

Tales secuencias pueden combinarse con cualquier secuencia de fijación anti-TRDV1 adecuada. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y FAP α y comprende:

- un componente de fijación a TRDV1 que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; y una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95; y

- un componente de fijación a FAP α que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 458, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 459 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 460; y una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 461, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 462 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 463.

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y FAP α y comprende:

- un componente de fijación a TRDV1 que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40; y

- un componente de fijación a FAP α que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 456 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 457.

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija

específicamente a TRDV1 y FAP α y comprende:

- un componente de fijación a TRDV1 que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40; y

5 - un componente de fijación a FAP α que comprende SEQ ID NO: 402.

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y FAP α y comprende SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 415. En algunas formas de realización, el anticuerpo se fija específicamente a TRDV1 y FAP α y comprende SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 415. En algunas formas de realización, el anticuerpo se fija específicamente a TRDV1 y FAP α y comprende SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 415.

En algunas formas de realización, el segundo epítipo diana está presente sobre una glicoproteína de la superficie celular. La glicosilación de proteínas es una modificación posterior a la traducción importante y habitual. Se cree que más de 50 % de las proteínas humanas están glicosiladas para modular la funcionalidad de las proteínas. Una glicosilación anormal se ha correlacionado con varias enfermedades, tales como enfermedades inflamatorias de la piel, diabetes mellitus, trastornos cardiovasculares, artritis reumatoide, enfermedades de Alzheimer y priones, y cáncer. Los ejemplos de glicoproteínas de la superficie celular incluyen CD1a, CD1b, CD1c, CD1d, CD1e, CD3d, CD3e, CD3g, CD8a, CD8b, CD11a, CD21, CD36, CD42a, CD42b, CD42c, CD42d, CD43, CD66a, CD66f, CD177, CD235a, CD235b, CD236, CD238, CD243, CD227 y CD301. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es mesotelina (MSLN) MSLN es un antígeno asociado al cáncer y es un ejemplo de una glicoproteína de la superficie celular. MSLN se expresa de manera limitada en células sanas (células mesoteliales que revisten la pleura, el peritoneo y el pericardio) pero se expresa también en varios tipos de cáncer (mesotelioma maligno y pancreático, colangiocarcinoma, adenocarcinomas de ovario y pulmón, mesotelioma maligno, cáncer de páncreas, cáncer de ovario, cáncer de endometrio, cáncer de las vías biliares, cáncer gástrico y leucemia mieloide aguda pediátrica). MSLN es un ejemplo de un antígeno de diferenciación tumoral. La función fisiológica de MSLN no está clara, pero MSLN es una diana útil para la localización de tratamientos para tumores MSLN+, o puede aprovecharse como un marcador tumoral. En la técnica se conocen anticuerpos monoclonales

que se fijan específicamente a epítomos de MSLN. Por ejemplo, anetumab es un anticuerpo monoclonal que se fija específicamente a un epítomo de MSLN.

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico comprende un componente de fijación a MSLN que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 466, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 467 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 468; y una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 469, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 470 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 471. En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico comprende un componente de fijación a MSLN que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 464 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 465. En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a MSLN y comprende SEQ ID NO: 404.

Tales secuencias pueden combinarse con cualquier secuencia de fijación anti-TRDV1 adecuada. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y MSLN y comprende:

- un componente de fijación a TRDV1 que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; y una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95; y
- un componente de fijación a MSLN que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 466, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 467 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 468; y una región

variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 469, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 470 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 471.

5 En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y MSLN y comprende:

- un componente de fijación a TRDV1 que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40; y

10 - un componente de fijación a MSLN que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 464 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 465.

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y MSLN y comprende:

15 - un componente de fijación a TRDV1 que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40; y

- un componente de fijación a MSLN que comprende SEQ ID NO: 404

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y MSLN y comprende SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 416. En algunas formas de realización, el anticuerpo se fija específicamente a TRDV1 y MSLN y comprende SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 416. En algunas formas de realización, el anticuerpo se fija específicamente a TRDV1 y MSLN y comprende SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 416.

25 En diversas formas de realización, el segundo epítipo diana es un epítipo de un antígeno inmunomodulador. Los antígenos inmunomoduladores son antígenos que modulan (activan o inhiben) el sistema inmunitario. En algunas formas de realización, el antígeno inmunomodulador es una proteína de la superficie celular (es decir, un antígeno expresado sobre la superficie de una célula, en particular un antígeno expresado sobre la superficie de una célula inmunitaria, tal como linfocitos, neutrófilos, monocitos o macrófagos). El antígeno inmunomodulador puede expresarse en un linfocito T V δ 1+ o puede expresarse en una célula

30

diferente, por ejemplo, una célula CD4+, una célula CD8+ o una célula inmunitaria diferente. El antígeno inmunomodulador puede seleccionarse del grupo que consiste en B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), B7-DC (CD273), B7-H1 (CD274), B7-H2 (CD275), B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), B7-H5 (VISTA), BTLA (CD272), 4-1BB (CD137), CD137L, CD24, CD27, CD28, CD38, CD40, CD40L (CD154), CD54, CD59, CD70, CTLA4 (CD152), CXCL9, GITR (CD357), HVEM (CD270), ICAM-1 (CD54), ICOS (CD278), LAG-3 (CD223), OX40 (CD134), OX40L (CD252), PD-1 (CD279), PD-L1 (CD274), TIGIT, CD314, CD334, CD335, CD337 y TIM-3 (CD366).

En algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es un epítipo de una molécula estimuladora del punto de control inmunitario. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es OX40 (CD134). OX40 es un antígeno inmunomodulador y un ejemplo de un miembro de la superfamilia de TNFR (TNFRSF). En algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es un epítipo que está presente en una molécula de TNFRSF. Estas proteínas son una superfamilia de receptores de citocinas caracterizados por la capacidad para fijarse a factores de necrosis tumoral (TNF) a través de un dominio rico en cisteína extracelular. Los ejemplos incluyen CD18, CD27, CD30, CD40, CD95, CD120a, CD120b, CD134, CD137, CD265, CD268, CD269, CD270, CD271, CD357 y CD358. Uno de tales ejemplos, OX40 (CD134), es un receptor del punto de control inmunitario coestimulador tardío expresado en linfocitos T CD4+ y CD8+. OX40 es expresada más en linfocitos T CD4+ y no se expresa constitutivamente en linfocitos T indiferenciados ya que la expresión de OX40 depende de la activación completa del linfocito T. Cuando se activa (por ejemplo, mediante OX40L), OX40 promueve la activación de linfocitos T CD4+/CD8+, la supervivencia y expansión de linfocitos T efectores y de memoria, y la inhibición de la actividad de Treg. Esto inhibe la evasión inmunitaria por parte del tumor. Como OX40 es una diana estimuladora, los tratamientos dirigidos a OX40 activan las células inmunitarias que expresan OX40 para estimular la respuesta inmunitaria (por ejemplo, una respuesta de linfocitos T CD48+) contra el tumor. En la técnica se conocen anticuerpos monoclonales que se fijan específicamente a epítopos de OX40. Por ejemplo, ponalizumab es un anticuerpo monoclonal que se fija específicamente a un epítipo de OX40.

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico comprende un componente de fijación a OX40 que comprende una región variable de la cadena pesada que

comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 490, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 491 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 492; y una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 493, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 494 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 495. En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico comprende un componente de fijación a OX40 que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 488 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 489. En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a OX40 y comprende SEQ ID NO: 410.

Tales secuencias pueden combinarse con cualquier secuencia de fijación anti-TRDV1 adecuada. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y OX40 y comprende:

- un componente de fijación a TRDV1 que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; y una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95; y

- un componente de fijación a OX40 que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 490, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 491 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 492; y una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 493, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 494 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 495.

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y OX40 y comprende:

- un componente de fijación a TRDV1 que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40; y
- un componente de fijación a OX40 que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 488 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 489.

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y OX40 y comprende:

- un componente de fijación a TRDV1 que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40; y
- un componente de fijación a OX40 que comprende SEQ ID NO: 410.

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y OX40 y comprende SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 419. En algunas formas de realización, el anticuerpo se fija específicamente a TRDV1 y OX40 y comprende SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 419. En algunas formas de realización, el anticuerpo se fija específicamente a TRDV1 y OX40 y comprende SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 419.

En algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es un epítipo que está presente en un miembro de la superfamilia de TNF. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es un epítipo de 4-1BB (CD137). 4-1BB es un antígeno inmunomodulador y también un ejemplo de un miembro de la superfamilia de TNF. Esta es una superfamilia proteica de proteínas transmembrana tipo II que contienen el dominio de homología de TNF que incluye CD70, CD137, CD153, CD154, CD252, CD253, CD254, CD256, CD257 y CD258. 4-1BB (CD137) es un receptor del punto de control inmunitario inducible y coestimulador expresado en linfocitos T, así como células NK, células dendríticas (DC), monocitos, neutrófilos y linfocitos B. 4-1BB es un antígeno estimulador y se expresa particularmente en linfocitos T CD8+ activados. 4-1BB *in vitro* estimula la expansión de linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+, macrófagos y DC, así como la producción de citocinas. 4-

1BB *in vivo* presenta un sesgo hacia la activación de linfocitos T CD8+ y demuestra una fuerte actividad antitumoral, ya que la reticulación de 4-1BB mejora la proliferación de los linfocitos T, la secreción de IL-2, la supervivencia y la actividad citolítica. Como 4-1BB es una diana estimuladora, los tratamientos dirigidos a 4-1BB activan las células inmunitarias que expresan 4-1BB para estimular la respuesta inmunitaria (por ejemplo, una respuesta de linfocitos T CD8+ citolíticos) contra el tumor. En la técnica se conocen anticuerpos monoclonales que se fijan específicamente a epítomos de 4-1BB. Por ejemplo, utomilumab es un anticuerpo monoclonal que se fija específicamente a un epítomo de 4-1BB.

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico comprende un componente de fijación a 4-1BB que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 482, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 483 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 484; y una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 485, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 486 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 487. En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico comprende un componente de fijación a 4-1BB que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 480 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 481. En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a 4-1BB y comprende SEQ ID NO: 408.

Tales secuencias pueden combinarse con cualquier secuencia de fijación anti-TRDV1 adecuada. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y 4-1BB y comprende:

- un componente de fijación a TRDV1 que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; y una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos

de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95; y

- un componente de fijación a 4-1BB que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 482, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 483 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 484; y una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 485, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 486 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 487.

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y 4-1BB y comprende:

- un componente de fijación a TRDV1 que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40; y

- un componente de fijación a 4-1BB que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 480 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 481.

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y 4-1BB y comprende:

- un componente de fijación a TRDV1 que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40; y

- un componente de fijación a 4-1BB que comprende SEQ ID NO: 408

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y 4-1BB y comprende SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 418. En algunas formas de realización, el anticuerpo se fija específicamente a TRDV1 y 4-1BB y comprende SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 418. En algunas formas de realización, el anticuerpo se fija específicamente a TRDV1 y 4-1BB y comprende SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 418.

En algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es una molécula inhibidora del

punto de control inmunitario. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es TIGIT (inmunorreceptor de linfocitos T con dominios Ig e ITIM). TIGIT es un antígeno inmunomodulador y es un ejemplo de un inhibidor del punto de control inmunitario expresado en linfocitos T, incluso linfocitos T $\gamma\delta$, y células NK. TIGIT cumple una función en la homeostasis inmunitaria y la prevención de la autoinmunidad al fijarse a su ligando (PVR/CD155), lo que da como resultado la inhibición de los linfocitos T. TIGIT se sobreexpresa en linfocitos infiltrados en tumores. El bloqueo terapéutico de TIGIT es conveniente porque aumenta la proliferación de linfocitos T, la producción de citocinas y la desgranulación. En la técnica se conocen anticuerpos monoclonales que se fijan específicamente a epítopos de TIGIT. Por ejemplo, tiragolumab es un anticuerpo monoclonal que se fija específicamente a un epítipo de TIGIT.

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico comprende un componente de fijación a TIGIT que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 498, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 499 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 500; y una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 501, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 502 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 503. En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico comprende un componente de fijación a TIGIT que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 496 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 497. En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TIGIT y comprende SEQ ID NO: 412.

Tales secuencias pueden combinarse con cualquier secuencia de fijación anti-TRDV1 adecuada. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y TIGIT y comprende:

- un componente de fijación a TRDV1 que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y

una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; y una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95; y

- un componente de fijación a TIGIT que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 498, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 499 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 500; y una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 501, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 502 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 503.

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y TIGIT y comprende:

- un componente de fijación a TRDV1 que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40; y
- un componente de fijación a TIGIT que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 496 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 497.

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y TIGIT y comprende:

- un componente de fijación a TRDV1 que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40; y
- un componente de fijación a TIGIT que comprende SEQ ID NO: 412

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y TIGIT y comprende SEQ ID NO: 439 y SEQ ID NO: 420.

En algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es una molécula inhibidora del punto de control inmunitario. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el segundo

epítopo diana es PD-1 (proteína de muerte celular programada 1). PD-1 es un antígeno inmunomodulador y un ejemplo de un miembro receptor de la superficie celular de la superfamilia de inmunoglobulina. PD-1 es un ejemplo de un inhibidor del punto de control inmunitario expresado en linfocitos T CD4+/CD8+ activados, así como otros tipos de células inmunitarias tales como linfocitos T $\gamma\delta$, linfocitos B y macrófagos. La fijación de PD-1 a sus ligandos da como resultado la inhibición de la activación de los linfocitos T. En circunstancias normales, esto cumple una función en la homeostasis inmunitaria y protege contra la autoinmunidad al disminuir la apoptosis en Treg y aumentar la apoptosis de linfocitos T específicos del antígeno. En entornos de cáncer, esto da como resultado un escape inmunitario para las células tumorales al inactivar los linfocitos T CD8+ citolíticos. Por lo tanto, el bloqueo de PD-1 es una diana terapéutica prometedora. En la técnica se conocen anticuerpos monoclonales que se fijan específicamente a epítopos de PD-1. Por ejemplo, pembrolizumab es un anticuerpo monoclonal que se fija específicamente a un epítopo de PD-1.

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico comprende un componente de fijación a PD-1 que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 474, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 475 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 476; y una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 477, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 478 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 479. En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico comprende un componente de fijación a PD-1 que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 472 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 473. En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a PD-1 y comprende SEQ ID NO: 406.

Tales secuencias pueden combinarse con cualquier secuencia de fijación anti-TRDV1 adecuada. Por ejemplo, en algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y PD-1 y comprende:

- un componente de fijación a TRDV1 que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; y una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95; y

- un componente de fijación a PD-1 que comprende una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 474, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 475 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 476; y una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 477, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 478 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 479.

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y PD-1 y comprende:

- un componente de fijación a TRDV1 que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40; y

- un componente de fijación a PD-1 que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 472 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 473.

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija específicamente a TRDV1 y PD-1 y comprende:

- un componente de fijación a TRDV1 que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40; y

- un componente de fijación a PD-1 que comprende SEQ ID NO: 406.

En algunas formas de realización, el anticuerpo biespecífico o multiespecífico se fija

específicamente a TRDV1 y PD-1 y comprende SEQ ID NO: 438; y SEQ ID NO: 417.

En algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es una molécula estimuladora del punto de control inmunitario. Las moléculas estimuladoras del punto de control inmunitario incluyen, por ejemplo, OX40, OX40L, 4-1BB (CD137), CD137L, CD27, CD70, CD28, GITR, ICOS, CD40 y CD40L. En algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es uno o más seleccionados de OX40, OX40L, 4-1BB (CD137), CD137L, CD27, CD70, CD28, GITR, ICOS, CD40 y CD40L. En algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es uno o más seleccionados de OX40 y 4-1BB.

En algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es una molécula inhibidora del punto de control inmunitario. Las moléculas inhibidoras del punto de control inmunitario incluyen, por ejemplo, TIGIT, CD155, PD-1, PD-L1, CTLA-4, B7-H3, B7-H4, BTLA, LAG-3, VISTA y TIM-3. En algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es uno o más seleccionados de TIGIT, CD155, PD-1, PD-L1, CTLA-4, B7-H3, B7-H4, BTLA, LAG-3, VISTA y TIM-3. En algunas formas de realización, el segundo epítipo diana es uno o más seleccionados de TIGIT y PD-1.

Las referencias en la presente a que un antígeno está “sobre” una célula se refieren a antígenos que se expresan en la membrana de la superficie celular o que están asociados con (el lado extracelular de) la membrana de la superficie celular de tales células.

En diversas formas de realización, el segundo epítipo diana es un epítipo de un antígeno de cúmulo de diferenciación CD. La nomenclatura de cúmulo de diferenciación (CD) es un sistema unificador mediante el cual se identifican y se nombran las moléculas de la superficie celular. Por lo general, las proteínas de la superficie celular no reciben un número de CD hasta que se hayan generado al menos dos anticuerpos monoclonales contra dichas proteínas de la superficie celular. Así, este sistema garantiza que todas las proteínas de la superficie celular que recibieron un número de CD son susceptibles de reconocimiento y fijación por parte de anticuerpos monoclonales específicos o fragmentos de estos. En diversas formas de realización, el antígeno CD es uno seleccionado de CD1a, CD1b, CD1c, CD1d, CD1e, CD2, CD3, CD3d, CD3e, CD3g, CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD8a, CD8b, CD9, CD10, CD11a, CD11b, CD11c, CD11d, CD13, CD14, CD15, CD16, CD16a, CD16b, CD17, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD25, CD26, CD27, CD28, CD29, CD30, CD31, CD32A, CD32B, CD33, CD34, CD35, CD36, CD37, CD38, CD39, CD40, CD41, CD42,

CD42a, CD42b, CD42c, CD42d, CD43, CD44, CD45, CD46, CD47, CD48, CD49a, CD49b,
 CD49c, CD49d, CD49e, CD49f, CD50, CD51, CD52, CD53, CD54, CD55, CD56, CD57,
 CD58, CD59, CD60a, CD60b, CD60c, CD61, CD62E, CD62L, CD62P, CD63, CD64a, CD65,
 CD65s, CD66a, CD66b, CD66c, CD66d, CD66e, CD66f, CD68, CD69, CD70, CD71, CD72,
 5 CD73, CD74, CD75, CD75s, CD77, CD79A, CD79B, CD80, CD81, CD82, CD83, CD84,
 CD85A, CD85B, CD85C, CD85D, CD85F, CD85G, CD85H, CD85I, CD85J, CD85K, CD85M,
 CD86, CD87, CD88, CD89, CD90, CD91, CD92, CD93, CD94, CD95, CD96, CD97, CD98,
 CD99, CD100, CD101, CD102, CD103, CD104, CD105, CD106, CD107, CD107a, CD107b,
 CD108, CD109, CD110, CD111, CD112, CD113, CD114, CD115, CD116, CD117, CD118,
 10 CD119, CD120, CD120a, CD120b, CD121a, CD121b, CD122, CD123, CD124, CD125,
 CD126, CD127, CD129, CD130, CD131, CD132, CD133, CD134, CD135, CD136, CD137,
 CD138, CD139, CD140A, CD140B, CD141, CD142, CD143, CD144, CDw145, CD146,
 CD147, CD148, CD150, CD151, CD152, CD153, CD154, CD155, CD156, CD156a, CD156b,
 CD156c, CD157, CD158, CD158A, CD158B1, CD158B2, CD158C, CD158D, CD158E1,
 15 CD158E2, CD158F1, CD158F2, CD158G, CD158H, CD158I, CD158J, CD158K, CD159a,
 CD159c, CD160, CD161, CD162, CD163, CD164, CD165, CD166, CD167a, CD167b, CD168,
 CD169, CD170, CD171, CD172a, CD172b, CD172g, CD173, CD174, CD175, CD175s,
 CD176, CD177, CD178, CD179a, CD179b, CD180, CD181, CD182, CD183, CD184, CD185,
 CD186, CD187, CD188, CD189, CD190, CD191, CD192, CD193, CD194, CD195, CD196,
 20 CD197, CDw198, CDw199, CD200, CD201, CD202b, CD203c, CD204, CD205, CD206,
 CD207, CD208, CD209, CD210, CDw210a, CDw210b, CD211, CD212, CD213a1, CD213a2,
 CD214, CD215, CD216, CD217, CD218a, CD218b, CD219, CD220, CD221, CD222, CD223,
 CD224, CD225, CD226, CD227, CD228, CD229, CD230, CD231, CD232, CD233, CD234,
 CD235a, CD235b, CD236, CD237, CD238, CD239, CD240CE, CD240D, CD241, CD242,
 25 CD243, CD244, CD245, CD246, CD247, CD248, CD249, CD250, CD251, CD252, CD253,
 CD254, CD255, CD256, CD257, CD258, CD259, CD260, CD261, CD262, CD263, CD264,
 CD265, CD266, CD267, CD268, CD269, CD270, CD271, CD272, CD273, CD274, CD275,
 CD276, CD277, CD278, CD279, CD280, CD281, CD282, CD283, CD284, CD285, CD286,
 CD287, CD288, CD289, CD290, CD291, CD292, CDw293, CD294, CD295, CD296, CD297,
 30 CD298, CD299, CD300A, CD300C, CD301, CD302, CD303, CD304, CD305, CD306, CD307,
 CD307a, CD307b, CD307c, CD307d, CD307e, CD308, CD309, CD310, CD311, CD312,

CD313, CD314, CD315, CD316, CD317, CD318, CD319, CD320, CD321, CD322, CD323, CD324, CD325, CD326, CD327, CD328, CD329, CD330, CD331, CD332, CD333, CD334, CD335, CD336, CD337, CD338, CD339, CD340, CD344, CD349, CD351, CD352, CD353, CD354, CD355, CD357, CD358, CD360, CD361, CD362, CD363, CD364, CD365, CD366, 5 CD367, CD368, CD369, CD370 y CD371.

Preservación de células sanas

Si bien no se comprenden por completo los mecanismos con los que los linfocitos T $\gamma\delta$ reconocen antígenos y distinguen entre células sanas y enfermas (Ming Heng y Madalene Heng, *Antigen Recognition by $\gamma\delta$ T-Cells*. Madame Curie Bioscience Database [Internet], 10 Austin (TX): Landes Bioscience; 2000-2013), el hecho de que los linfocitos T $\gamma\delta$ pueden distinguir entre células sanas y células enfermas y exhibir una notable policitotoxicidad para las células enfermas (ver los tipos de células de ejemplo no limitativo en la Tabla 6) significa que se los puede aprovechar para proporcionar medicamentos mejorados con una ventana terapéutica mejorada. Además, al mejorar tales capacidades de linfocitos T $\gamma\delta$, se proporciona 15 una oportunidad para tratar la enfermedad mientras se preservan las células sanas, al colocalizar los linfocitos T $\gamma\delta$ con células enfermas incluso cuando un antígeno de cáncer, antígeno inflamatorio o antígeno patógeno particular no es conocido, o también está presente en células sanas, en un paciente en particular.

Tabla 6. Células cancerosas de ejemplo inactivadas por células V δ 1+ humanas policitotóxicas

Cáncer de mama	
M-CSF7, T47D, MDA-MB-231	Mahvi <i>et al</i> (1993) Cancer Imm. Immunother. (1993) 37:181 – 186 Dutta I <i>et al</i> (2017). Front. Immunol. 8:776
Cáncer de pulmón	
GLC1, N592	Ferrarini <i>et al</i> (1996) Jn of Nat. Cancer Inst., volumen 88 (7) páginas 436–441
Cáncer de páncreas	
panc89, QGP-1, PANC-1	Maeurer <i>et al.</i> (1996) JEM 183 (4) 1681-1696

	Kitayama 1993 Clin Exp Imm 93 (3) 442-7
Cáncer gastrointestinal	
HT29, HCT116, Y, SKCO1, Caco2, HCT116, Lovo, DLD-1, SW480	Wu, <i>et al.</i> (2015), OncoImmunology, 4:3, e992749 Mikulak, <i>et al.</i> (2019) JCI Insight. 4(24):e125884 Groh <i>et al.</i> (1999) PNAS 96 (12) 6879-6884
Neuroblastoma	
LAN1, KELLY	Fisher <i>et al.</i> (2014) Clin Cancer Res; 20(22); 5720–32
Melanoma	
A375	Cordova (2012) Plos ONE 7 (11) e49878
Cáncer de ovario	
OV-1063, SW626	Groh <i>et al.</i> (1999) PNAS 96 (12) 6879-6884
Cáncer de hígado	
HepG2	Groh <i>et al.</i> (1999) PNAS 96 (12) 6879-6884
Cáncer de cuello uterino	
HeLa	Groh <i>et al.</i> (1999) PNAS 96 (12) 6879-6884
Cáncer de próstata	
DV145, PC-3	Groh <i>et al.</i> (1999) PNAS 96 (12) 6879-6884
Mieloma múltiple	
ARH77, U266	Knight <i>et al.</i> (2012) Cytotherapy, 14:9, 1110-1118,
AML	

KG-1, KASUMI-1, OCI-AML3, U937, HL60, MV4 11, AML193, HEL, THP-1	Lorenzo et al (2019) Canc Imm Res 7 (4)
CLL	
MEC-1	Almeida et al (2016) Clin Can Res 22 (23)

A modo de ejemplo no limitativo, estudios recientes con detalles multiespecíficos CD3xHER2 resaltan los desafíos de los enfoques actuales o convencionales. Específicamente, el uso de tales enfoques convencionales puede dar como resultado perfiles de toxicidad menos favorables. Esto se debe a que, como muchos otros antígenos asociados a tumores (TAA), el antígeno HER2 no solo se expresa en tipos de cáncer tales como cáncer de mama, sino que también se expresa en tejidos sanos tales como células del corazón. Por lo tanto, el uso de medicamentos CD3xHER2 que acoplan y colocan todos los linfocitos T con células HER2 positivas puede dar como resultado ventanas de tratamiento o índices terapéuticos menos favorables. Esto se debe a que tales medicamentos acoplarán todos los linfocitos T de los cuales la gran mayoría en circulación serán linfocitos T $\alpha\beta$ (CD4+ positivos, CD8+ positivos, etc.). Y una vez que los linfocitos T $\alpha\beta$ se colocan con células HER2 positivas, tales linfocitos T $\alpha\beta$ convencionales exhiben capacidades limitadas para preservar las células sanas HER2+ y capacidades limitadas para inactivar solo las células enfermas HER2+. En consecuencia, y a modo de este ejemplo, en estudios de *Macaca fascicularis*, en los cuales se administraron tales biespecíficos CD3xHER2, se requirió eutanasia temprana (incluso el día de dosis) en algunas situaciones. Además, durante el estudio de ejemplo (ver Staflin et al. (2020) JCI Insight 5(7): e133757), se concluyó que el redireccionamiento de los linfocitos T para inactivar células que expresan HER2 puede inducir efectos adversos sobre los tejidos que expresan HER2. Se observó que, con excepción del hígado, todos los tejidos afectados o dañados expresaron HER2.

En un ejemplo no limitativo adicional, una segunda especificidad de fijación puede ser a una porción asociada a tumores también implicada en controlar o regular la función de las células inmunitarias. Por ejemplo, la segunda especificidad puede estar diseñada para el direccionamiento aun así denominado “inhibidor del punto de control” tal como PD-L1 (CD274) o CD155. Una vez más, ni PDL-1 ni CD155 son 100 % específicos de la enfermedad. Ambas

proteínas también se pueden expresar en células sanas. Sin embargo, los anticuerpos multiespecíficos diseñados para colocalizar específicamente células Vδ1+ a células PD-L1 positivas o células CD155 positivas pueden dar como resultado la inactivación selectiva de células enfermas o cancerosas PD-L1 o CD155 positivas. Además, el direccionamiento a los inhibidores del punto de control asociados con la enfermedad presentes en células enfermas tales como células cancerosas no solo colocalizará las células Vδ1+ a tales tumores sino también puede conferir efectos favorables adicionales, por ejemplo, al modular o reducir la señalización de PD-1/PD-L1 o TIGIT/CD155 que de otro modo puede regular negativamente las respuestas inmunitarias mediadas por linfocitos T a la enfermedad.

Por lo tanto, en lugar de emplear tales enfoques convencionales, se proporcionan en la presente anticuerpos multiespecíficos en donde al menos un primer dominio de fijación puede fijar específicamente células Vδ1+ y al menos un segundo dominio de fijación se puede fijar específicamente a dianas presentes en células y tejidos enfermos. El uso de dichos anticuerpos multiespecíficos de esta manera puede, por lo tanto, dar como resultado la colocalización de células Vδ1+ a células enfermas que expresan la segunda diana. Además, y dado que dichas dianas asociadas a enfermedad no son a menudo 100 % específicas para enfermedad, este enfoque de direccionamiento y colocalización de células efectoras Vδ1+ específicamente, puede ser más preferido sobre enfoques convencionales. Esto se debe a que las células efectoras Vδ1+ pueden ser capaces de reconocer patrones de estrés en células enfermas o infectadas y por ende capaces de inactivar selectivamente las células enfermas mientras preservan las células sanas que también expresan la misma diana.

Por lo tanto, los anticuerpos multiespecíficos presentados en la presente son capaces de acoplarse en el TCR de células Vδ1, pero no se produce una activación completa a menos que también haya células tumorales. Un acoplamiento completo de los anticuerpos presentados en la presente en el TCR conduce a una regulación descendente parcial y se cree que las células Vδ1 fijadas a los anticuerpos presentados en la presente solo se activan por completo y se vuelven citotóxicas en presencia de células estresadas, tales como células tumorales. Esto se muestra, por ejemplo, en la Figura 50, I, J, K y la Figura 63 A-F). Esto representa otra ventaja de seguridad vital para el enfoque presentado en la presente, ya que la citotoxicidad fuera de la diana se reduce y toda la potencia de los anticuerpos multiespecíficos para activar las células Vδ1 solo se produce en presencia de células

tumorales, por lo que se preservan las células sanas (incluso las células sanas que expresan el segundo antígeno diana del anticuerpo multiespecífico).

Se cree que un mecanismo detrás de la capacidad de los linfocitos T $\gamma\delta$ para detectar señales de estrés en las células tumorales se debe a los NCR (receptores de citotoxicidad naturales) que expresan. Los NCR son capaces de acoplar los ligandos de NCR en las células tumorales. Por lo tanto, se puede emplear un mecanismo de activación doble, en donde los linfocitos T $\gamma\delta$ se activan a través de la estimulación de TCR, incluso a través de NCR, que pueden detectar las células tumorales para permitir una activación completa y la citotoxicidad. Esto se diferencia de la estimulación de linfocitos T $\alpha\beta$ a través de CD3, por ejemplo, en donde toda la estimulación es a través del TCR. Por lo tanto, tales células casi no se diferencian entre células sanas o transformadas porque no tienen mecanismos tales como la detección de células tumorales independiente de la presentación del antígeno, por ejemplo, a través de NCR. Por lo tanto, si los anticuerpos contra CD3 tienen habilitación de Fc, atraerán otras células inmunitarias que pueden desencadenar una cascada de eventos impredecibles y deseables tales como tormentas de citocinas, agotamiento e incluso sobreactivación de células inmunitarias, lo que conduce, por ejemplo, a la inactivación de los linfocitos T por parte de las células NK, etc. En el presente enfoque, la estimulación de los linfocitos T $\gamma\delta$ con los anticuerpos multiespecíficos presentados en la presente no conduce a tales preocupaciones porque los linfocitos T $\gamma\delta$ son capaces de distinguir entre células sanas y células tumorales, incluso a través de su mecanismo de detección de NCR y, por lo tanto, inactivan selectivamente las células estresadas tales como las células cancerosas o las células infectadas viralmente por esta especificidad de células enfermas.

En un ejemplo no limitativo adicional, un paciente puede tener cáncer de hígado, y no se conoce un antígeno específico de cáncer de hígado en el paciente. En este caso, la segunda especificidad del anticuerpo multiespecífico puede ser a un epítipo presente en muchas o la totalidad de las células hepáticas, tales como, por ejemplo, receptor de asialoglicoproteína 1. Luego, esto colocalizará los linfocitos T $\gamma\delta$ al hígado, donde los linfocitos T $\gamma\delta$ pueden inactivar las células hepáticas cancerosas, mientras que preservan las células hepáticas sanas. Esto se muestra, por ejemplo, en la Figura 50, I, J, K y la Figura 63, A-F. A modo de un tercer ejemplo no limitativo, en un paciente que tiene cáncer de pulmón, donde no se conoce antígeno de cáncer de pulmón en el paciente, la segunda especificidad del anticuerpo

multiespecífico puede ser a un epítipo en una célula normal de pulmón, tal como, por ejemplo, SP-1. Esto colocalizará los linfocitos T $\gamma\delta$ al pulmón, donde los linfocitos T $\gamma\delta$ pueden inactivar las células de cáncer de pulmón, mientras que se preservan las células pulmonares sanas. A modo de un cuarto ejemplo no limitativo, en un paciente que tiene linfoma de linfocitos B, donde no se conoce antígeno de linfoma de linfocitos B en el paciente, la segunda especificidad del anticuerpo multiespecífico puede ser a un epítipo en linfocitos B normales, tales como, por ejemplo, CD19. Esto colocalizará los linfocitos T $\gamma\delta$ a las linfocitos B, donde los linfocitos T $\gamma\delta$ pueden inactivar las células de linfoma, mientras que se preservan los linfocitos B sanos. Los antígenos específicos de células, antígenos asociados con células, antígenos específicos de tejidos y antígenos asociados con tejidos son bien conocidos en la técnica y el direccionamiento a este tipo de antígeno puede lograrse a través de la segunda especificidad de los anticuerpos multiespecíficos de la invención.

La segunda especificidad de fijación puede dirigir un antígeno en la misma célula que V δ 1 o en una célula diferente del mismo tipo de tejido o de un tipo de tejido diferente. En ciertas formas de realización, el epítipo diana puede estar en una célula diferente que incluye un linfocito T, linfocitos B, célula tumoral, célula de tejido autoinmunitario o célula infectada viralmente diferente. Alternativamente, el epítipo diana puede estar en la misma célula.

Los anticuerpos multiespecíficos o fragmentos de fijación al antígeno de estos pueden elaborarse con cualquier formato, siempre que el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este tenga especificidades múltiples. Los ejemplos de formatos de anticuerpo multiespecífico incluyen, entre otros, CrossMab, DAF (dos en uno), DAF (cuatro en uno), DutaMab, DT-IgG, botones en ocales (KIH), botones en ocales (cadena liviana común), par de carga, intercambio de brazo Fab, SEEDcuerpo, Triomab, LUZ-Y, Fcab, $\kappa\lambda$ -cuerpo, Fab ortogonal, DVD-IgG, IgG(H)-scFv, scFv-(H)IgG, IgG(L)-scFv, scFv-(L)IgG, IgG(L,H)-Fv, IgG(H)-V, V(H)-IgG, IgG(L)-V, V(L)-IgG, KIH IgG-scFab, 2scFv-IgG, IgG-2scFv, scFv4-Ig, Zycuerpo, DVI-IgG (cuatro en uno), nanocuerpo, Nanoby-HAS, BiTE, diacuerpo, DART, TandAb, scdiacuerpo, scdiacuerpo-CH3, diacuerpo-CH3, triple cuerpo, formatos de Morrison, minianticuerpo, minicuerpo, minicuerpo TriBi, scFv-CH3 KIH, Fab-scFv, scFv-CH-CL-scFv, F(ab')₂, F(ab)₂-scFv₂, scFv-KIH, Fab-scFv-Fc, HCAb tetravalente, scdiacuerpo-Fc, diacuerpo-Fc, scFv-Fc en tándem, intracuerpo, Dock and Lock, ImmTAC, HSAcuerpo, scdiacuerpo-HAS, scFv-toxina en tándem, IgG-IgG, ov-X-cuerpo, duocuerpo, mab² y scFv1-PEG-scFv2 (ver

Spiess *et al.* (2015) *Molecular Immunology* 67:95-106).

Un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se describe en la presente también puede evaluarse al medir su capacidad de funcionalidad mejorada en un formato multiespecífico, tal como un formato biespecífico o triespecífico. Sorprendentemente, es posible identificar a través de tales estudios aun otras mejoras funcionales en el rendimiento de los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos como se describen en la presente.

Se han descrito previamente diversos formatos multiespecíficos derivados de anticuerpos y por lo general se construyen a partir de las piezas de fijación del componente. Por lo general, una vez contruidos, el rendimiento de tales formatos de fijación multiespecíficos o multidiana como se describen en la presente se puede medir en uno o más de los sistemas modelo mencionados anteriormente (inactivación de células, proliferación celular, ahorro de células sanas/modelos específicos de células enfermas, etc.). Opcionalmente, también se comparan con dichas partes componentes y otras moléculas comparativas.

Si bien no están limitados por este enfoque, en general cuando se construyen anticuerpos como anticuerpos multiespecíficos, los módulos de dominio de fijación a cada diana (primera, segunda, tercera, etc.) se construyen de manera opcional a partir de scFv, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, dominio variable (por ejemplo, VH o VL), diacuerpo, minicuerpo o anticuerpos de longitud completa. Por ejemplo, cada dominio de fijación o módulo mencionado se crea en uno o más de los siguientes formatos no limitativos en donde los dominios de fijación que comprenden dominios variables, y/o anticuerpos de longitud completa y/o fragmentos de anticuerpo, están ligados operativamente en serie para generar anticuerpos multiespecíficos.

Notablemente, los anticuerpos multiespecíficos que comprenden al menos un (primer) dominio de fijación que se dirige a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ como se describe en la presente se mejoran adicionalmente cuando dicho primer dominio de fijación se formatea con un formato de anticuerpo multiespecífico que comprende al menos un segundo dominio de fijación contra el tejido ("sólido") y la enfermedad hemopoyética ("líquido") o dianas asociadas al tipo celular.

Anticuerpos multiespecíficos - ejemplos no limitativos:

Para describir la aplicabilidad del enfoque se construyó una serie de anticuerpos multiespecíficos de ejemplo no limitativos. Estos anticuerpos multiespecíficos comprenden al menos un (primer) dominio de fijación que se dirige a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ y al menos

un (segundo) dominio de fijación que se dirige a una diana asociada a la enfermedad:

Un primer ejemplo; anticuerpo multiespecífico Vδ1-EGFr:

Para este ejemplo, un dominio de fijación (a la primera diana) comprendió porciones intactas de anticuerpo; específicamente, VH-CH1-CH2-CH3 y los componentes VL-CL cognados, mientras que el segundo dominio de fijación (a la segunda diana) comprendió un fragmento de anticuerpo; específicamente, un formato scFv. Luego, los dos módulos de fijación se fusionaron con ayuda de un ligador. El formato biespecífico resultante a veces se denomina “formato Morrison”. En este caso, un primer dominio de fijación se dirige a la cadena Vδ1 de un TCR γδ y un segundo dominio de fijación se dirige a EGFR (ver el Ejemplo 20).

Un segundo ejemplo; anticuerpo multiespecífico Vδ1-EGFr:

Para este ejemplo, un dominio de fijación (a la primera diana) comprendió un dominio variable de anticuerpo (que comprendía específicamente un dominio VH y VL cognado) mientras que el segundo dominio de fijación (a la segunda diana) comprendió un dominio de fijación dentro de un dominio constante de cadena pesada (CH1-CH2-CH3) (ver también EP2546268 A1 Tabla 1/EP3487885 A1). El biespecífico resultante comprende un primer dominio de fijación que se dirige a la cadena Vδ1 de un TCR γδ y un segundo dominio de fijación que se dirige al receptor de EGF (ver el Ejemplo 20).

Un tercer ejemplo; anticuerpo multiespecífico Vδ1-CD19:

Para este ejemplo, un dominio de fijación (a la primera diana) comprendió porciones intactas de anticuerpos específicamente, VH-CH1-CH2-CH3 y componentes VL-CL cognados, mientras que el segundo dominio de fijación (a la segunda diana) comprendió un fragmento de anticuerpo; específicamente, un formato scFv. Luego, los dos módulos de fijación se fusionaron con ayuda de un ligador. Para este ejemplo, el biespecífico resultante comprendió un primer dominio de fijación que se dirigía a la cadena Vδ1 de un TCR γδ y un segundo dominio de fijación que se dirigía a CD19 (ver el Ejemplo 21).

Un cuarto ejemplo; un anticuerpo multiespecífico Vδ1-CD19 adicional

Para este ejemplo, se preparó un anticuerpo multiespecífico adicional con fijación específica tanto a TRDV1 como a CD19 y se evaluó su fijación al antígeno (lo cual incluye TRDV1 humana y de *Macaca fascicularis*), activación de células Vδ1 y citotoxicidad de células Vδ1. El ejemplo se preparó en función de ADT1-4-2; ver los Ejemplos 26 y 27.

Un quinto ejemplo; un anticuerpo multiespecífico Vδ1-Her2

Para este ejemplo, se preparó un anticuerpo multiespecífico con fijación específica tanto a TRDV1 como a Her2 y se evaluó su fijación al antígeno, activación de células V δ 1 y citotoxicidad de células V δ 1. El ejemplo se preparó en función de ADT1-4-2; ver el Ejemplo 28.

5 *Un sexto ejemplo; un anticuerpo multiespecífico V δ 1-EGFR adicional*

Para este ejemplo, se preparó un anticuerpo multiespecífico adicional con fijación específica tanto a TRDV1 como a EGFR y se evaluó su fijación al antígeno, activación de células V δ 1 y citotoxicidad de células V δ 1. El ejemplo se preparó en función de ADT1-4-2; ver los Ejemplos 29 y 30.

10 *Un séptimo ejemplo; un anticuerpo multiespecífico V δ 1-FAP α*

Para este ejemplo, un dominio de fijación (a la primera diana) comprendió porciones intactas de anticuerpos específicamente, VH-CH1-CH2-CH3 y componentes VL-CL cognados, mientras que el segundo dominio de fijación (a la segunda diana) comprendió un fragmento de anticuerpo; específicamente, un formato scFv. Luego, los dos módulos de fijación se fusionaron con ayuda de un ligador. Para este ejemplo, el biespecífico resultante comprendió un primer dominio de fijación que se dirigía a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ y un segundo dominio de fijación que se dirigía a FAP α (ver el Ejemplo 33).

Un octavo ejemplo; un anticuerpo multiespecífico V δ 1-mesotelina

Para este ejemplo, un dominio de fijación (a la primera diana) comprendió porciones intactas de anticuerpos específicamente, VH-CH1-CH2-CH3 y componentes VL-CL cognados, mientras que el segundo dominio de fijación (a la segunda diana) comprendió un fragmento de anticuerpo; específicamente, un formato scFv. Luego, los dos módulos de fijación se fusionaron con ayuda de un ligador. Para este ejemplo, el biespecífico resultante comprendió un primer dominio de fijación que se dirigía a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ y un segundo dominio de fijación que se dirigía a mesotelina (ver el Ejemplo 34).

Un noveno ejemplo; un anticuerpo multiespecífico V δ 1-PD-1

Para este ejemplo, un dominio de fijación (a la segunda diana) comprendió porciones intactas de anticuerpos específicamente, VH-CH1-CH2-CH3 y componentes VL-CL cognados, mientras que el segundo dominio de fijación (a la primera diana) comprendió un fragmento de anticuerpo; específicamente, un formato scFv. Luego, los dos módulos de fijación se fusionaron con ayuda de un ligador. Para este ejemplo, el biespecífico resultante comprendió

un primer dominio de fijación que se dirigía a PD-1 y un segundo dominio de fijación que se dirigía a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ (ver el Ejemplo 35).

Un décimo ejemplo; un anticuerpo multiespecífico V δ 1-4-1BB

5 Para este ejemplo, un dominio de fijación (a la primera diana) comprendió porciones intactas de anticuerpos específicamente, VH-CH1-CH2-CH3 y componentes VL-CL cognados, mientras que el segundo dominio de fijación (a la segunda diana) comprendió un fragmento de anticuerpo; específicamente, un formato scFv. Luego, los dos módulos de fijación se fusionaron con ayuda de un ligador. Para este ejemplo, el biespecífico resultante comprendió un primer dominio de fijación que se dirigía a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ y un segundo
10 dominio de fijación que se dirigía a 4-1BB (ver el Ejemplo 36).

Un onceavo ejemplo; un anticuerpo multiespecífico V δ 1-OX40

15 Para este ejemplo, un dominio de fijación (a la primera diana) comprendió porciones intactas de anticuerpos específicamente, VH-CH1-CH2-CH3 y componentes VL-CL cognados, mientras que el segundo dominio de fijación (a la segunda diana) comprendió un fragmento de anticuerpo; específicamente, un formato scFv. Luego, los dos módulos de fijación se fusionaron con ayuda de un ligador. Para este ejemplo, el biespecífico resultante comprendió un primer dominio de fijación que se dirigía a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ y un segundo
20 dominio de fijación que se dirigía a OX40 (ver el Ejemplo 34).

Un duodécimo ejemplo; un anticuerpo multiespecífico V δ 1-TIGIT

20 Para este ejemplo, un dominio de fijación (a la segunda diana) comprendió porciones intactas de anticuerpos específicamente, VH-CH1-CH2-CH3 y componentes VL-CL cognados, mientras que el segundo dominio de fijación (a la primera diana) comprendió un fragmento de anticuerpo; específicamente, un formato scFv. Luego, los dos módulos de fijación se fusionaron con ayuda de un ligador. Para este ejemplo, el biespecífico resultante comprendió
25 un primer dominio de fijación que se dirigía TIGIT y un segundo dominio de fijación que se dirigía a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ (ver el Ejemplo 38).

Notablemente, en todos los ejemplos mencionados que comprenden al menos un (primer) dominio de fijación que se dirige a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$, se observó al menos un
30 segundo dominio de fijación que se dirige a una segunda funcionalidad mejorada de epítipo en comparación con los controles y partes componentes (ver los Ejemplos 20, 21 y 26 a 38 en la presente).

En conjunto, estos ejemplos no limitativos resaltan la flexibilidad de los anticuerpos multiespecíficos o fragmentos de fijación al antígeno de estos como se describen en la presente. Estos ejemplos no limitativos describen ese enfoque de anticuerpo multiespecífico en donde los anticuerpos o fragmentos de estos que se dirigen a la cadena V δ 1 de la línea germinal (aminoácidos 1-90 de, por ejemplo, SEQ ID NO: 272) pueden mejorarse
 5 adicionalmente mediante la combinación con segundos dominios de fijación para formar anticuerpos multiespecíficos. A modo de ejemplos no limitativos, los anticuerpos multiespecíficos se proporcionan en la presente con funcionalidad mejorada y contienen dominios de fijación que comprenden anticuerpos intactos (VH-CH1-CH2-CH3 y VL-CL) y/o
 10 dominios variables (VH y VL cognado o VH-CH1 y VL-CL cognado), y/o fragmentos de anticuerpo (scFv).

En una forma de realización, los dominios de fijación de anticuerpo multiespecífico que se dirigen a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ (la primera diana) pueden comprender (i) uno o dos o más dominios de fijación de anticuerpo, en donde cada uno comprende una cadena pesada
 15 (VH-CH1-CH2-CH3) y un componente de cadena liviana cognado (VL-CL) y/o (ii) uno o dos o más dominios de fijación de anticuerpo, en donde cada uno comprende un dominio variable de cadena pesada (VH o VH-CH1) y un componente de dominio variable de cadena liviana cognado (VL o VL-VC) y/o (iii) uno o dos o más dominios de fijación de anticuerpo, en donde cada uno comprende un fragmento de anticuerpo que contiene CDR.

20 En una forma de realización se proporciona un anticuerpo multiespecífico que comprende al menos un primer dominio de fijación derivado de anticuerpo que se dirige a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ y que está ligado operativamente a un segundo dominio de fijación de anticuerpo que se dirige a un segundo epítipo. Opcionalmente, dichos dominios de fijación comprenden al menos uno o más dominios de fijación VH y VL cognados, o uno o más VH-CH1-CH2-CH3
 25 y dominios de fijación VL-CL cognados, o uno o más dominios de fijación de fragmento de anticuerpo. Opcionalmente, dicho segundo dominio de fijación se dirige a un segundo epítipo asociado con, o expresado en, la superficie celular de una célula. Opcionalmente, dicho segundo epítipo está ubicado sobre un polipéptido de la superficie celular asociado con una célula enferma, célula tumoral, célula infectada viralmente o célula de tejido autoinmunitario.
 30 Opcionalmente, dicho segundo epítipo o epítopos están ubicados en el antígeno CD19, EGFR Her2, FAP α , mesotelina, PD-1, 4-1BB, OX40 o TIGIT asociado a la enfermedad o el

tipo celular. Opcionalmente, dicho anticuerpo multiespecífico que comprende al menos un primer dominio de fijación derivado de anticuerpo que se dirige a la cadena V δ 1 de un TCR y δ está ligado operativamente a un segundo dominio de fijación que se fija al receptor de EGF y que comprende uno o más de las siguientes modificaciones de la cadena pesada de acuerdo con la numeración EU; L358T y/o T359D y/o K360D y/o N361G y/o Q362P y/o N384T y/o G385Y y/o Q386G y/o D413S y/o K414Y y/o S415W y/o Q418Y y/o Q419K.

Opcionalmente, un anticuerpo multiespecífico que comprende al menos un primer dominio de fijación derivado de anticuerpo que se dirige a la cadena V δ 1 de un TCR y δ está ligado operativamente a un segundo dominio de fijación que comprende SEQ ID NO: 385 o SEQ ID NO: 386 o SEQ ID NO: 387 o SEQ ID NO: 314 o SEQ ID NO: 394 o SEQ ID NO: 395 o SEQ ID NO: 397 o SEQ ID NO: 402 o SEQ ID NO: 404 o SEQ ID NO: 406 o SEQ ID NO: 408 o SEQ ID NO: 410 o SEQ ID NO: 412 o variantes de fijación funcionalmente equivalentes de estas y que se dirigen a EGFR, CD19 Her2, FAP α , mesotelina, PD-1, 4-1BB, OX40 o TIGIT. Opcionalmente, los anticuerpos multiespecíficos comprenden SEQ ID NO: 388; o SEQ ID NO: 315; o SEQ ID NO: 316; o SEQ ID NO: 378; o SEQ ID NO: 379; o SEQ ID NO: 380; o SEQ ID NO: 382; o SEQ ID NO: 383; o SEQ ID NO: 384; o SEQ ID NO: 393; o SEQ ID NO: 396; o SEQ ID NO: 398; o SEQ ID NO: 399; o SEQ ID NO: 401; o SEQ ID NO: 403; o SEQ ID NO: 405; o SEQ ID NO: 407; o SEQ ID NO: 409 o SEQ ID NO: 411 o SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 415; o SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 416; o SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 419; o SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 418; o SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 415; o SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 416; o SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 419; o SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 418; o SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 415; o SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 416; o SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 419; o SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 418; o SEQ ID NO: 421; y SEQ ID NO: 422 o SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 422 o SEQ ID NO: 423; y SEQ ID NO: 424; o SEQ ID NO: 425; y SEQ ID NO: 426; o SEQ ID NO: 421; y SEQ ID NO: 437; o SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 437; o SEQ ID NO: 423; y SEQ ID NO: 427; o SEQ ID NO: 425; y SEQ ID NO: 428; o SEQ ID NO: 421; y SEQ ID NO: 429; o SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 429; o SEQ ID NO: 423; y SEQ ID NO: 430; o SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 431; o SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 433 o SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 434; o SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 435; o SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 431; o SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 433 o SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 434; o SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 435; o SEQ

ID NO: 505 y SEQ ID NO: 431; o SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 433 o SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 434; o SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 435; o SEQ ID NO: 438; y SEQ ID NO: 417 o SEQ ID NO: 439 y SEQ ID NO: 420.

Tabla A: Resumen de secuencias biespecíficas

SEQ ID NO:	Descripción
314	Modulo de fijación anti-CD19 de scFv
315	G04 x multiespecífico anti-CD19 (longitud completa)
316	E07 x multiespecífico anti-CD19 (longitud completa)
377	Anti-lisozima de pollo x FS1-67 Fcab (dominio de fijación a EGFR)
378	C08 parental x FS1-67 (LAGA)
379	G04 parental x FS1-67 (LAGA)
380	E07 parental x FS1-67 (LAGA)
381	Anti-lisozima de pollo x scFV de cetuximab
382	C08 parental x scFV de cetuximab
383	G04 parental x scFV de cetuximab
384	E07 parental x scFV de cetuximab
385	IgG1 CH1-CH2-CH3 FS-167 Fcab
386	IgG1 CH1-CH2-CH3 FS-167 Fcab (LAGA)
387	scFV de cetuximab
388	ADT1-4-2 x FS1-67 EGFR (LAGA)
390	Receptor de folato alfa
393	ADT1-4-2 HER2 (LAGA)
394	Módulo de fijación a HER2 (LAGA)
395	Módulo de fijación a HER2 (Ig WT)
396	ADT1-4-2 x CD19
397	Módulo de fijación a CD19
398	ADT1-4-2 HER2 (IgG1 wt)

399	ADT1-4-2 x FS1-67 EGFR (wt)
401	ADT1-4-2 x FAP alfa
402	Módulo de fijación a scFv anti-FAP alfa
403	ADT1-4-2 x MSLN
404	Módulo de fijación a scFv anti-MSLN
405	PD-1xADT1-4-2
406	Módulo de fijación anti-PD-1 de ejemplo como scFV
407	ADT1-4-2x 4-1BB
408	LC de módulo de fijación de scFv anti-41BB
409	ADT1-4-2xOX40
410	Módulo de fijación a scFv anti-OX40
411	TIGIT x ADT1-4-2
412	Módulo de fijación a scFv anti-TIGIT de ejemplo como scFV
413	Módulo de fijación a scFv anti-VD1
414	ADT1-4-2 LC
415	ADT1-4-2 HC + FAPa scFv
416	ADT1-4-2 HC + MSLN scFv
417	PD-1 HC + scFV ADT1-4-2
418	ADT1-4-2 HC + 4-1BB scFv
419	ADT1-4-2 HC + OX40 scFv
420	TIGIT HC + scFV ADT1-4-2
421	G04 LC
422	G04 HC + CD19 scFv
423	E07 LC
424	E07 HC + CD19 scFv
425	C08 LC
426	C08 HC (LAGA) EGFR FS1-67
427	E07 HC (LAGA) EGFR FS1-67

428	C08 HC + EGFR scFv
429	G04 HC + EGFR scFv
430	E07 HC + EGFR scFv
431	ADT1-4-2 HC (LAGA) EGFR FS1-67
433	ADT1-4-2 HC (LAGA) HER2 Fcab
434	ADT1-4-2 HC (wt) HER2 Fcab
435	ADT1-4-2 HC (wt) EGFR FS1-67
437	G04 HC (LAGA) EGFR FS1-67
438	PD-1 LC
439	TIGIT LC
504	Cadena liviana modificada de ADT1-4 (S74L)
505	Cadena liviana invertida de ADT1-4-2 (L74S)

En un aspecto de la invención, se pueden usar anticuerpos multiespecíficos de la invención en cantidades terapéuticamente eficaces para tratar una enfermedad o un trastorno para mejorar al menos un signo o síntoma de una enfermedad o trastorno.

- 5 En una forma de realización, se proporciona un método para seleccionar o caracterizar o comparar anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos como se describen en la presente que se fijan a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ en un formato de anticuerpo multiespecífico en donde dicho anticuerpo multiespecífico se aplica a células V δ 1+ para medir el efecto conferido por dichas células V δ 1+ de entidad multiespecífica (por ejemplo, tras dicho
- 10 fenotipo de V δ 1+ y/o citotoxicidad y/o especificidad para células enfermas y/o mejora de estas).

Tratamientos conjuntos

- Los anticuerpos anti-V δ 1 o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención pueden usarse en ciertos tratamientos conjuntos. En algunas formas de realización, los anticuerpos
- 15 anti-V δ 1 o fragmentos de fijación al antígeno de estos pueden combinarse con un modulador de un antígeno de cáncer o un antígeno asociado al cáncer, por ejemplo, un modulador para un antígeno de cáncer o un antígeno asociado al cáncer enumerado anteriormente como posibles candidatos para anticuerpos multiespecíficos que incorporan los anticuerpos anti-V δ 1 o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención. En algunas formas de

realización, los anticuerpos anti-V δ 1 o fragmentos de fijación al antígeno de estos pueden combinarse con un modulador de un antígeno de cúmulo de diferenciación CD, por ejemplo, un modulador de un antígeno CD enumerado anteriormente como posibles candidatos para anticuerpos multiespecíficos que incorporan los anticuerpos anti-V δ 1 o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la invención. En algunas formas de realización, los moduladores pueden ser antagonistas o agonistas. Los moduladores adecuados incluyen anticuerpos, proteínas de fusión o moléculas pequeñas.

Inmunosconjugados

Los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos de la presente invención pueden conjugarse con una porción terapéutica, tal como una citotoxina o un agente quimioterapéutico. Tales conjugados pueden denominarse inmunosconjugados. Como se usa en la presente, el término “inmunosconjugado” se refiere a un anticuerpo que está ligado química o biológicamente a otra porción, tal como una citotoxina, un agente radioactivo, una citocina, un interferón, una porción diana o indicadora, una enzima, una toxina, un péptido o proteína o un agente terapéutico. El anticuerpo puede ligarse a la citotoxina, agente radioactivo, citocina, interferón, porción diana o indicadora, enzima, toxina, péptido o agente terapéutico en cualquier ubicación de la molécula siempre que pueda fijarse a su diana. Los ejemplos de inmunosconjugados incluyen conjugados anticuerpo-fármaco y proteínas de fusión anticuerpo-toxina. En una forma de realización, el agente puede ser un segundo anticuerpo diferente a V δ 1. En ciertas formas de realización, el anticuerpo puede conjugarse con un agente específico para una célula de tumor o una célula infectada viralmente. El tipo de porción terapéutica que puede conjugarse con el anticuerpo anti-V δ 1 tendrá en cuenta la afección que se tratará y el efecto terapéutico que se desea lograr. En una forma de realización, el agente puede ser un segundo anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija a una molécula distinta de V δ 1.

Métodos de maduración de afinidad y anticuerpos relacionados

La presente invención también proporciona anticuerpos anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR con maduración de afinidad o fragmentos de fijación al antígeno de estos.

Por ejemplo, se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este es una variante con maduración de afinidad de un anticuerpo anti-V δ 1

- parental o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 parental o fragmento de fijación al antígeno de este comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y una secuencia de VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26. En otra forma de realización, se proporciona un anticuerpo
- 5 anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este es una variante con maduración de afinidad de un anticuerpo anti-V δ 1 original o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 parental o fragmento de fijación al antígeno de este comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 106 y una
- 10 secuencia de VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 118. También se proporciona un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este es una variante con maduración de afinidad de un anticuerpo anti-V δ 1 parental o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 parental o fragmento de
- 15 fijación al antígeno de este comprende:
- una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 273 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 282;
- una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 274 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 283;
- 20 una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 275 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 284;
- una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 276 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 285;
- una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 277 y una VL que
- 25 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 286;
- una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 278 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 287;
- una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 279 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 288;
- 30 una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 280 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 289;

una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 281 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 290; o

una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 312 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 313.

- 5 Se puede usar cualquier método conocido para aumentar la afinidad de los anticuerpos de la invención a fin de generar anticuerpos con maduración de afinidad o anticuerpos con maduración de afinidad humanizados con una mayor afinidad con los anticuerpos Vδ1.

Adecuadamente, las variantes con maduración de afinidad se fijan a una cadena variable delta 1 (Vδ1) de un receptor de linfocitos T (TCR) γδ con una afinidad al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, con mayor preferencia, al menos 50 % mayor que el anticuerpo parental, por ejemplo, como se mide según Kd.

En algunas formas de realización, la invención proporciona un método para preparar anticuerpos de la invención (o fragmentos de fijación al antígeno de estos) que comprende proporcionar un anticuerpo parental divulgado en la presente y someter el anticuerpo a maduración de afinidad, en donde el anticuerpo producido se fija a una cadena variable delta 1 (Vδ1) de un receptor de linfocitos T (TCR) γδ con mayor afinidad que el anticuerpo parental. Adecuadamente, el anticuerpo producido se fija a una cadena variable delta 1 (Vδ1) de un receptor de linfocitos T (TCR) γδ con una afinidad al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 100 %, al menos 500 % o, con mayor preferencia, al menos 1000 % mayor que aquella con la que el anticuerpo parental se fija a una cadena variable delta 1 (Vδ1) de un receptor de linfocitos T (TCR) γδ, por ejemplo, como se mide según la Kd. En la técnica se conocen métodos para medir la afinidad y se los describe en los siguientes ejemplos. Los anticuerpos con maduración de afinidad producidos con tales métodos pueden formularse y usarse de la manera descrita en la presente para los demás anticuerpos anti-Vδ1 y fragmentos de fijación al antígeno de la invención.

La maduración de afinidad puede llevarse a cabo de acuerdo con cualquier método adecuado conocido por la persona del oficio de nivel medio. Por ejemplo, se usan ampliamente sistemas de expresión de anticuerpos *in vitro* para la generación de anticuerpos específicos con alta afinidad. En estos sistemas, el fenotipo (es decir, el fragmento del anticuerpo) está acoplado al genotipo (es decir, el gen del anticuerpo), lo que permite la determinación directa de la secuencia del anticuerpo. Se desarrollaron varios sistemas para lograr la expresión de

repertorios de anticuerpos a fin de permitir la posterior selección de aglutinantes, y el aumento de la rigurosidad de la selección permite la selección de variantes de afinidad cada vez mayor. Los fragmentos de anticuerpo pueden expresarse en levadura, ribosomas o partículas de expresión en fago o mediante acoplamiento directo a ADN.

- 5 Los métodos actuales de maduración de afinidad de anticuerpos pertenecen a dos categorías de mutagénesis: estocástica y no estocástica. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) propensa a errores, las cepas bacterianas mutadoras y la mutagénesis de saturación son ejemplos típicos de métodos de mutagénesis estocástica. Las técnicas no estocásticas usan a menudo barrido de alanina o mutagénesis dirigida al sitio para generar colecciones limitadas
- 10 de variantes específicas. Además, también se pueden usar enfoques de transposición para obtener variantes transpuestas del anticuerpo parental con el fin de mejorar adicionalmente la afinidad de los anticuerpos.

En consecuencia, en una forma de realización de la invención, el método de maduración de afinidad se selecciona del grupo que consiste en mutagénesis estocástica (por ejemplo,

15 reacción en cadena de la polimerasa (PCR) propensa a errores, cepas bacterianas mutadoras o mutagénesis de saturación), mutagénesis no estocástica (por ejemplo, barrido de alanina o mutagénesis dirigida al sitio), transposición (por ejemplo, transposición de ADN, transposición de cadena o transposición de CDR) y el uso del sistema CRISPR-Cas9 para introducir modificaciones.

- 20 Se describen métodos de maduración de afinidad en, por ejemplo, Rajpal *et al.*, Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(24):8466-71, Steinwand *et al.*, MAbs, 2014, 6(1):204-18, y en Handbook of Therapeutic Antibodies, Wiley, 2014, capítulo 6, Antibody Affinity (páginas 115–140).

En algunas formas de realización se proporciona un método para preparar una composición

25 farmacéutica que comprende proporcionar un anticuerpo preparado de acuerdo con un método indicado anteriormente (es decir, para producir un anticuerpo mediante maduración de afinidad) y coformular el anticuerpo con al menos uno o más excipientes aceptables desde el punto de vista farmacéutico. El anticuerpo usado en la preparación de la composición farmacéutica puede ser un mutante con maduración de afinidad de G04, E07, C08, B07, C05,

30 E04, F07, G06, G09, B09, G10 o E01, incluso todos los anticuerpos de los linajes ADT1-4 y ADT1-7 y fragmentos de fijación al antígeno y variantes de estos. Las composiciones

farmacéuticas producidas con tales métodos pueden usarse en los métodos de tratamiento de la presente invención como se describen en la presente para los demás anticuerpos anti-V δ 1.

Por lo tanto, se proporcionan anticuerpos anti-V δ 1 y fragmentos de fijación al antígeno de estos que son mutantes con maduración de afinidad o variantes de los anticuerpos divulgados en la presente. Por ejemplo, en una forma de realización, se proporciona una variante con maduración de afinidad de un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en G04, E07, C08, B07, C05, E04, F07, G06, G09, B09, G10 y E01. Generalmente, los mutantes con maduración de afinidad tienen una mayor afinidad con una cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T (TCR) $\gamma\delta$ que el anticuerpo parental (el anticuerpo del cual deriva el mutante). La presente invención también proporciona anticuerpos y fragmentos de fijación al antígeno de estos que pueden obtenerse u obtenidos mediante maduración de afinidad de un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este de la invención.

Los métodos de maduración de afinidad pueden introducir mutaciones ventajosas preferentemente en partes particulares de la secuencia parental. Por ejemplo, en algunas formas de realización, las variantes con maduración de afinidad retienen ciertas regiones del anticuerpo parental (o los métodos de la invención no introducen mutaciones en ciertas regiones del anticuerpo parental). Por ejemplo, en algunas formas de realización, las variantes con maduración de afinidad retienen:

- a) las secuencias de HCDR2, LCDR1 y LCDR2 (por ejemplo, entre otros, anticuerpos derivados de G04)
- b) las secuencias de HCDR1, HCDR2, LCDR1 y LCDR2 (por ejemplo, entre otros, anticuerpos derivados de E07)
- c) las secuencias de HFR2, HFR3, HFR4, LFR1 y LFR2 (por ejemplo, entre otros, anticuerpos derivados de G04)
- d) las secuencias de HFR1, HFR2, HFR3, HFR4, LFR2, LFR3 y LFR4 (por ejemplo, entre otros, anticuerpos derivados de E07)
- e) las secuencias de HFR2, HCDR2, HFR3, HFR4, LFR1, LCDR1, LFR2 y LCDR2 (por ejemplo, entre otros, anticuerpos derivados de G04); o
- f) las secuencias de HFR1, HCDR1, HFR2, HCDR2, HFR3, HFR4, LCDR1, LFR2, LCDR2, LFR3 y LFR4 (por ejemplo, entre otros, anticuerpos derivados de E07).

En algunas formas de realización, los anticuerpos con maduración de afinidad comprenden

una secuencia variable de la cadena liviana kappa pero comprenden un residuo en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT de la secuencia variable de la cadena liviana que no es serina. Por lo general, el aminoácido en este residuo será un aminoácido natural. En algunas formas de realización, el residuo en esta posición es un residuo no polar (por ejemplo, cualquier aminoácido seleccionado del grupo que consiste en glicina, alanina, valina, metionina, leucina y isoleucina) y/o es un residuo que no es de la línea germinal humana en esa posición (por ejemplo, cualquier aminoácido seleccionado del grupo que consiste en arginina, cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, tirosina y valina). En algunas formas de realización, el residuo de aminoácido en la posición 74 es leucina.

En algunas formas de realización, los anticuerpos con maduración de afinidad retienen las secuencias de HFR2, HCDR2, HFR3, HFR4, LFR1, LCDR1, LFR2, LCDR2 y HFR3 del anticuerpo parental (por ejemplo, entre otros, anticuerpos derivados de G04), excepto que la posición 74 en la región LFR3 mutó en un aminoácido distinto de serina (por ejemplo, un residuo no polar y/o no de la línea germinal en esa posición, tal como un residuo de leucina).

En algunas formas de realización, los anticuerpos con maduración de afinidad retienen las secuencias de HFR1, HCDR1, HFR2, HCDR2, HFR3, HFR4, LCDR1, LFR2, LCDR2, LFR3 y LFR4 del anticuerpo parental (por ejemplo, entre otros, anticuerpos derivados de E07), excepto que la posición 74 en la región LFR3 mutó en un residuo que no es serina (por ejemplo, un residuo no de la línea germinal humana y/o no polar en la posición 74, por ejemplo, un residuo de leucina).

En algunas formas de realización, los anticuerpos con maduración de afinidad retienen un porcentaje de identidad determinado en comparación con la secuencia parental. Por ejemplo, en algunas formas de realización, los anticuerpos con maduración de afinidad comprenden secuencias de VH y VL que son al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 95 % o al menos 96 % idénticas a las secuencias de VH y VL parentales correspondientes.

En algunas formas de realización, las variantes con maduración de afinidad retienen:

a) las secuencias de HCDR2, LCDR1 y LCDR2 (por ejemplo, entre otros, anticuerpos derivados de G04) y comprenden secuencias de VH y VL que son al menos 80 %, al menos 90 %, o al menos 95 % o al menos 96 % idénticas a las secuencias de VH y VL parentales correspondientes;

- b) las secuencias de HCDR1, HCDR2, LCDR1 y LCDR2 (por ejemplo, entre otros, anticuerpos derivados de E07) y comprenden secuencias de VH y VL que son al menos 80 %, al menos 90 %, o al menos 95 % o al menos 96 % idénticas a las secuencias de VH y VL parentales correspondientes;
- 5 c) las secuencias de HFR2, HFR3, HFR4, LFR1 y LFR2 (por ejemplo, entre otros, anticuerpos derivados de G04) y comprenden secuencias de VH y VL que son al menos 80 %, al menos 90 %, o al menos 95 % o al menos 96 % idénticas a las secuencias de VH y VL parentales correspondientes;
- d) las secuencias de HFR1, HFR2, HFR3, HFR4, LFR2, LFR3 y LFR4 (por ejemplo, entre
10 otros, anticuerpos derivados de E07) y comprenden secuencias de VH y VL que son al menos 80 %, al menos 90 %, o al menos 95 % o al menos 96 % idénticas a las secuencias de VH y VL parentales correspondientes;
- e) las secuencias de HFR2, HCDR2, HFR3, HFR4, LFR1, LCDR1, LFR2 y LCDR2 (por ejemplo, entre otros, anticuerpos derivados de G04) y comprenden secuencias de VH y VL
15 que son al menos 80 %, al menos 90 %, o al menos 95 % o al menos 96 % idénticas a las secuencias de VH y VL parentales correspondientes; o
- f) las secuencias de HFR1, HCDR1, HFR2, HCDR2, HFR3, HFR4, LCDR1, LFR2, LCDR2 LFR3 y LFR4 (por ejemplo, entre otros, anticuerpos derivados de E07) y comprenden
20 secuencias de VH y VL que son al menos 80 %, al menos 90 %, o al menos 95 % o al menos 96 % idénticas a las secuencias de VH y VL parentales correspondientes.

En algunas formas de realización, los anticuerpos con maduración de afinidad retienen las secuencias de HFR2, HCDR2, HFR3, HFR4, LFR1, LCDR1, LFR2, LCDR2 y HFR3 del anticuerpo parental (por ejemplo, entre otros, anticuerpos derivados de G04), excepto que la
25 posición 74 en la región LFR3 mutó en un residuo que no es serina (por ejemplo, un residuo no de la línea germinal humana y/o no polar en la posición 74, por ejemplo, un residuo de leucina), y los anticuerpos comprenden secuencias de VH y VL que son al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 95 % o al menos 96 % idénticas a las secuencias de VH y VL parentales correspondientes.

En algunas formas de realización, los anticuerpos con maduración de afinidad retienen las
30 secuencias de HFR1, HCDR1, HFR2, HCDR2, HFR3, HFR4, LCDR1, LFR2, LCDR2, LFR3 y LFR4 del anticuerpo parental (por ejemplo, entre otros, anticuerpos derivados de E07),

excepto que la posición 74 en la región LFR3 mutó en un residuo que no es serina (por ejemplo, un residuo no de la línea germinal humana y/o no polar en la posición 74, por ejemplo, un residuo de leucina), y los anticuerpos comprenden secuencias de VH y VL que son al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 95 % o al menos 96 % idénticas a las secuencias de VH y VL parentales correspondientes.

En algunas formas de realización, los anticuerpos con maduración de afinidad comprenden hasta 20, por ejemplo, hasta 15, por ejemplo, hasta 10 sustituciones de aminoácidos en comparación con las secuencias de anticuerpo parental.

Se pueden usar métodos específicos para preparar anticuerpos con maduración de afinidad.

- 10 Por ejemplo, los anticuerpos con maduración de afinidad de la presente invención se prepararon de acuerdo con un protocolo de clasificación específico para ayudar a proporcionar anticuerpos con maduración de afinidad con características favorables particulares. Específicamente, se analizó la fijación de todos los mAb anti-Vd1 a la diana nativa, $\gamma\delta$ TCR expresado por linfocitos T $\gamma\delta$ primarios. Se evaluó la fijación de los anticuerpos a linfocitos T $\gamma\delta$ al incubar una concentración fija de anticuerpos purificados con 3×10^5 linfocitos T $\gamma\delta$ derivados de la piel. Esta incubación se realizó en condiciones de bloqueo para impedir la fijación no específica de anticuerpos a través del receptor Fc. Se realizó una detección mediante la adición de un anticuerpo secundario contra IgG1 humana conjugado con tinte fluorescente. En el caso de los controles negativos, las células se prepararon con a)
- 20 solo un anticuerpo de isotipo (IgG humana recombinante), b) solo el anticuerpo anti-IgG humana conjugado con tinte fluorescente. Se incluyeron como controles positivos los clones parentales y el clon de mAB anti-Vd1 comercial TS8,2. La mayoría de los anticuerpos con maduración de afinidad demostró una fijación mejorada a la diana nativa como lo indicó un aumento de la amplitud de la señal (MFI) y del % de células V δ 1 detectadas en la población heterogénea de linfocitos T $\gamma\delta$ derivados de la piel en comparación con la herramienta anti-V δ 1 comercial Ab.
- 25

- Para clasificar adicionalmente los mAb anti-V δ 1, se continuó la evaluación de 12 anticuerpos de cada colección con el parámetro más mejorado de constante de disociación en comparación con los clones parentales para determinar por completo la KD mediante SPR con antígeno humano y de *Macaca fascicularis* en el caso del linaje ADT1-4 y con antígeno humano solamente en el caso del linaje ADT1-7. Se seleccionaron 8 clones de linaje ADT1-4
- 30

- (ADT1-4-19, ADT1-4-21, ADT1-4-31, ADT1-4-53, ADT1-4-2, ADT1-4-86, ADT1-4-112 y ADT1-4-143) y 3 clones de clones ADT1-7 (ADT1-7-20, ADT1-7-3, ADT1-7-61) para su caracterización funcional. Estos clones (y también ADT1-4-1, ADT1-4-6 y ADT1-4-138) se caracterizaron en el ensayo de regulación descendente de TCR para confirmar la mejora en el acoplamiento a la diana en comparación con los clones parentales. Se evaluó la mejora en los anticuerpos con maduración de afinidad de la activación de células V δ 1 en el ensayo de regulación ascendente de CD107a en el ensayo de inactivación a base de imágenes para determinar su capacidad para aumentar la citotoxicidad de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 derivados de la piel hacia las células cancerosas.
- En consecuencia, en algunas formas de realización, los métodos para preparar anticuerpos anti-V δ 1 con maduración de afinidad pueden comprender las siguientes etapas:
- a) proporcionar un anticuerpo anti-V δ 1 parental que tiene una secuencia de región VH y una secuencia de región VL;
 - b) proporcionar un panel de una o más variantes de anticuerpo anti-V δ 1 derivadas del anticuerpo parental, en donde la región VH de cada una de la una o más variantes de anticuerpo comprende una secuencia que es al menos alrededor de 96 % idéntica a la región VH del anticuerpo parental y la región VL de cada una de la una o más variantes de anticuerpo comprende una secuencia que es al menos alrededor de 96 % idéntica a la región VL del anticuerpo parental;
 - c) cribar el panel de variantes de anticuerpo para identificar variantes de anticuerpo que tengan una afinidad para TRDV1 humana y/o de *Macaca fascicularis* mayor que la afinidad del anticuerpo anti-V δ 1 parental para proporcionar un subpanel de variantes de anticuerpo que tienen mayor afinidad para TRDV1 humana y/o de *Macaca fascicularis* que el anticuerpo parental. Tal etapa de cribado puede realizarse al evaluar la fijación del panel de variantes de anticuerpo a $\gamma\delta$ TCR expresado por linfocitos T $\gamma\delta$ primarios. Tal etapa de cribado puede comprender adicional o alternativamente determinar el valor de KD de la una o más variantes de anticuerpo en el panel, por ejemplo, mediante resonancia de plasmones superficiales. En algunas formas de realización, las variantes de anticuerpo pueden seleccionarse para el subpanel cuando tienen una afinidad que es al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 100 %, al menos 500 % o al menos alrededor de 1000 % mayor que la afinidad del anticuerpo parental con TRVD1 humana y/o de *Macaca fascicularis*.

Las variaciones de secuencia entre el anticuerpo parental y la una o más variantes de anticuerpo en el primer panel pueden producirse en cualquier lugar de las secuencias de región variable. En algunas formas de realización, las variaciones de secuencia entre el anticuerpo parental y la una o más variantes de anticuerpo en el primer panel pueden producirse en las regiones CDR.

El método puede comprender además:

d) cribar funcionalmente el subpanel de variantes de anticuerpo.

El cribado funcional del subpanel de variantes de anticuerpo puede comprender cribar las variantes de anticuerpo en busca de las que causen:

- 10 i. regulación descendente de TCR en células V δ 1;
- ii. Aumento en la expresión de NCR en células V δ 1;
- iii. Aumento en la expresión de 4-1BB en células V δ 1;
- iv. regulación ascendente de CD107a en células V δ 1; y/o
- v. inactivación de células cancerosas mediada por células V δ 1; y opcionalmente
- 15 vi. agotamiento de células V δ 1.

El método puede comprender además:

e) seleccionar una o más variantes de anticuerpo del subpanel de variantes de anticuerpo para proporcionar el uno o más anticuerpos anti-vd2 con maduración de afinidad.

Los criterios de selección pueden ser los siguientes:

- 20 i. causar la regulación descendente de TCR en células V δ 1;
- ii. causar un aumento en la expresión de NCR en células V δ 1;
- iii. causar un aumento en la expresión de 4-1BB en células V δ 1;
- iv. causar la regulación ascendente de CD107a en células V δ 1; y/o
- v. causar la inactivación de células cancerosas mediada por células V δ 1; y opcionalmente
- 25 vi. no causar el agotamiento de células V δ 1.

En algunas formas de realización, el método puede ser un método para proporcionar uno o más anticuerpos anti-V δ 1 con maduración de afinidad que comprende:

a) proporcionar un anticuerpo anti-V δ 1 parental que tiene una secuencia de región VH y una secuencia de región VL;

- 30 b) proporcionar un panel de una o más variantes de anticuerpo anti-V δ 1 derivadas del anticuerpo parental, en donde la región VH de cada una de la una o más variantes de

anticuerpo comprende una secuencia que es al menos alrededor de 96 % idéntica a la región VH del anticuerpo parental y la región VL de cada una de la una o más variantes de anticuerpo comprende una secuencia que es al menos alrededor de 96 % idéntica a la región VL del anticuerpo parental;

- 5 c) cribar el panel de variantes de anticuerpo para identificar variantes de anticuerpo que tengan una afinidad con TRDV1 humana al menos 500 % mayor que la afinidad del anticuerpo anti-V δ 1 parental para proporcionar un subpanel de variantes de anticuerpo;
- d) cribar funcionalmente el subpanel de variantes de anticuerpo para identificar variantes de anticuerpo en el subpanel que:
 - 10 i. causen la regulación descendente de TCR en células V δ 1;
 - ii. causar un aumento en la expresión de NCR en células V δ 1;
 - iii. causar un aumento en la expresión de 4-1BB en células V δ 1;
 - iv. causen la regulación ascendente de CD107a en células V δ 1; y/o
 - v. causen la inactivación de células cancerosas mediada por células V δ 1;
- 15 e) seleccionar una o más variantes de anticuerpo del subpanel de variantes de anticuerpo para proporcionar el uno o más anticuerpos anti-V δ 1 con maduración de afinidad, en donde el uno o más anticuerpos anti-V δ 1 con maduración de afinidad:
 - i. causen la regulación descendente de TCR en células V δ 1;
 - ii. causar un aumento en la expresión de NCR en células V δ 1;
 - 20 iii. causar un aumento en la expresión de 4-1BB en células V δ 1;
 - iv. causen la regulación ascendente de CD107a en células V δ 1; y/o
 - v. causen la inactivación de células cancerosas mediada por células V δ 1;

En algunas formas de realización, el método puede ser un método para proporcionar uno o más anticuerpos anti-V δ 1 con maduración de afinidad que comprende:

- 25 a) proporcionar un anticuerpo anti-V δ 1 parental que tiene una secuencia de región VH y una secuencia de región VL;
- b) proporcionar un panel de una o más variantes de anticuerpo anti-V δ 1 derivadas del anticuerpo parental, en donde la región VH de cada una de la una o más variantes de anticuerpo comprende una secuencia que es al menos alrededor de 96 % idéntica a la región VH del anticuerpo parental y la región VL de cada una de la una o más variantes de anticuerpo comprende una secuencia que es al menos alrededor de 96 % idéntica a la región
- 30

VL del anticuerpo parental;

- c) cribar el panel de variantes de anticuerpo para identificar variantes de anticuerpo que tengan una afinidad con TRDV1 humana al menos 500 % mayor que la afinidad del anticuerpo anti-V δ 1 parental;
- 5 d) cribar el panel de variantes de anticuerpo para identificar variantes de anticuerpo que tengan una afinidad con TRDV1 de *Macaca fascicularis* al menos 500 % mayor que la afinidad del anticuerpo anti-V δ 1 parental;
- e) proporcionar un subpanel de variantes de anticuerpo anti-V δ 1, en donde el subpanel de variantes de anticuerpo anti-V δ 1 comprende variantes de anticuerpo anti-V δ 1 que se fijan a
- 10 TRDV1 tanto humana como de *Macaca fascicularis* con una afinidad al menos 500 % mayor que la afinidad del anticuerpo anti-V δ 1 parental con TRDV1 humana y de *Macaca fascicularis*;
- f) cribar funcionalmente el subpanel de variantes de anticuerpo para identificar variantes de anticuerpo en el subpanel que:
 - i. causen la regulación descendente de TCR en células V δ 1;
 - 15 ii. causar un aumento en la expresión de NCR en células V δ 1;
 - iii. causar un aumento en la expresión de 4-1BB en células V δ 1;
 - iv. causen la regulación ascendente de CD107a en células V δ 1; y/o
 - v. causen la inactivación de células cancerosas mediada por células V δ 1;
- g) seleccionar una o más variantes de anticuerpo del subpanel de variantes de anticuerpo
- 20 para proporcionar el uno o más anticuerpos anti-V δ 1 con maduración de afinidad, en donde el uno o más anticuerpos anti-V δ 1 con maduración de afinidad:
 - i. causen la regulación descendente de TCR en células V δ 1;
 - ii. causar un aumento en la expresión de NCR en células V δ 1;
 - iii. causar un aumento en la expresión de 4-1BB en células V δ 1;
 - 25 iv. causen la regulación ascendente de CD107a en células V δ 1; y/o
 - v. causan la inactivación de células cancerosas mediada por células V δ 1.

Reactividad cruzada con *Macaca fascicularis*

Adecuadamente, los anticuerpos anti-V δ 1 y fragmentos de fijación al antígeno de estos exhiben reactividad cruzada tanto con TRDV1 humana SEQ ID NO: 272 (incluso la variante

30 polimórfica, es decir, SEQ ID NO: 306) como con TRDV1 de *Macaca fascicularis* (SEQ ID NO: 308). La reactividad cruzada es claramente útil para proporcionar anticuerpos que pueden

usarse en estudios en animales *in vivo* durante la evaluación preclínica.

Los presentes inventores identificaron sorprendentemente una mutación de marco que puede conferir una mayor fijación de anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos anti-Vδ1 y fragmentos de fijación al antígeno de estos, a antígenos de *Macaca fascicularis*. La mutación de marco no afecta negativamente la afinidad del anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este con la versión humana correspondiente del antígeno. La mutación es la mutación del residuo de serina en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT de una secuencia variable de la cadena liviana kappa en un residuo que no es serina (por ejemplo, un residuo no de la línea germinal humana y/o no polar en la posición 74). Los aminoácidos no polares pueden seleccionarse del grupo que consiste en glicina, alanina, valina, metionina, leucina e isoleucina. Los aminoácidos que no son de la línea germinal pueden seleccionarse del grupo que consiste en arginina, cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, tirosina y valina. Los aminoácidos no polares y no de la línea germinal (es decir, los aminoácidos que no son polares y no son de la línea germinal) pueden seleccionarse del grupo que consiste en glicina, valina, metionina, leucina e isoleucina. En algunas formas de realización, la mutación es la mutación del residuo de serina en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT de una secuencia variable de la cadena liviana kappa en un residuo de leucina. La mutación es una sustitución directa tal que la longitud total de la cadena no cambia. Por lo tanto, se elimina la serina en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT y se la reemplaza directamente por otro aminoácido (tal como un aminoácido no de la línea germinal humana y/o no polar en la posición 74, tal como una leucina). La sustitución puede lograrse de acuerdo con cualquier método adecuado conocido por la persona del oficio de nivel medio.

Esto se demuestra mediante la **Figura 26**, por ejemplo. La **Figura 26** demuestra los efectos notables conferidos mediante la mutación de la cadena kappa en serina 74 a leucina. A través de las líneas germinales kappa, la posición 74 está solo parcialmente conservada y, de manera interesante, una cantidad de aminoácidos polares/no polares/cargados diferentes están presentes en diferentes subclases de la línea germinal de la cadena kappa (ver IMGT.org). Sin embargo, de acuerdo con lo que se conoce, este es el primer ejemplo de cualquier cadena kappa con una leucina en la posición 74. Independientemente, esta investigación demuestra concluyentemente que al mutar esta única posición de aminoácidos,

se puede mejorar la afinidad de la molécula parental de ADT1-4 para TCR V δ 1 humano y de *Macaca fascicularis* en aproximadamente 13 veces y 5 veces, respectivamente. Para validar adicionalmente este hallazgo, el restablecimiento de leucina 74 nuevamente a serina de la línea germinal de inicio se llevó a cabo para una molécula hija de ejemplo de alta afinidad (ADT1-4-2). Recíprocamente, esto demostró que mediante el restablecimiento nuevamente a serina de la línea germinal, se puede recudir la afinidad de V δ 1 humana y de *Macaca fascicularis* en aproximadamente 11 veces y 23 veces, respectivamente (ver **Figure 26D (i) y (ii)**). Estos resultados destacan la importancia de las contribuciones aditivas incrementales de modificaciones de CDR3 combinadas con modificaciones a la posición 74 de la cadena liviana kappa cuando se mejora la afinidad de ADT1-4 en TCR V δ 1 humana y de *Macaca fascicularis* hasta un máximo deseado de 100 veces o más. Estos hallazgos son ejemplos no exhaustivos de cómo (i) mejorar la afinidad de la molécula de ADT1-4 parental o (ii) disminuir la afinidad de moléculas hijas de alta afinidad (como se ejemplificó mediante ADT1-4-2 en esta instancia). En consecuencia, estos hallazgos resaltan que se puede aumentar o disminuir la afinidad de esta clase de moléculas según se desee mediante cambios de combinaciones diana a CDR3 de cadena pesada y liviana en conjunto con la selección de aminoácidos específicos en la posición 74 de la cadena kappa.

Las referencias en la presente a anticuerpos que comprenden una secuencia variable de la cadena liviana kappa que comprende un residuo en la posición 74 de acuerdo con la numeración IMGT que no es serina pueden definirse alternativamente como anticuerpos que comprenden una secuencia variable de la cadena liviana que comprende una región LFR1, una región LCDR1, una región LFR2, una región LCDR2, una región LFR3, una región LCDR3 y una región LFR4, en donde la región LFR3 comprende un residuo en la posición 74 de acuerdo con la numeración IMGT que no es serina (por ejemplo, un aminoácido que no es de la línea germinal humana y/o no polar en la posición 74, tal como un residuo de leucina). Tal definición alternativa puede aplicarse a todos los anticuerpos divulgados en la presente que comprenden una secuencia variable de la cadena liviana kappa que comprende un residuo en la posición 74 de acuerdo con la numeración IMGT que no es serina (por ejemplo, un aminoácido que no es de la línea germinal humana y/o no polar, tal como un residuo de leucina).

En consecuencia, la presente invención proporciona anticuerpos anti-variable delta 1 (anti-

V δ 1) de TCR o fragmentos de fijación al antígeno de estos que comprenden una secuencia variable de la cadena liviana kappa, en la que el residuo en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT de la secuencia variable de la cadena liviana no es una serina (por ejemplo, un aminoácido no de la línea germinal humana y/o no polar en la posición 74, tal como un residuo de leucina). En algunas formas de realización, el residuo en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT de la secuencia variable de la cadena liviana es una leucina. Adecuadamente, el anticuerpo puede ser un anticuerpo IgG. Por ejemplo, el anticuerpo puede ser un anticuerpo IgG1.

Los anticuerpos anti-V δ 1 y fragmentos de fijación al antígeno de estos proporcionados en la presente pueden proporcionarse con la sustitución en la posición 74 (de acuerdo con el sistema de numeración IMGT) de la secuencia variable de la cadena liviana. Por ejemplo, los anticuerpos anti-V δ 1 y fragmentos de fijación al antígeno y variantes de estos descritos en la presente pueden comprender una secuencia variable de la cadena liviana kappa que comprende un residuo distinto de serina en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT (por ejemplo, un aminoácido no de la línea germinal humana y/o no polar en la posición 74, tal como un residuo de leucina). En algunas formas de realización, los anticuerpos anti-V δ 1 y fragmentos de fijación al antígeno y variantes de estos descritos en la presente pueden comprender una secuencia variable de la cadena liviana kappa que comprende un residuo de leucina en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT. Las formas de realización que comprenden una mutación en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT de una cadena liviana kappa pueden ser particularmente relevantes para anticuerpos derivados de ADT1-4, si bien la mutación puede aplicarse de igual manera en otros anticuerpos. Por ejemplo, se observa que la posición 74 de la cadena liviana no presenta una alta conservación en las diferentes líneas germinales de la cadena liviana kappa/lambda. También se observa que las diferentes líneas germinales de la cadena liviana contienen aminoácidos con polaridad y/o carga diferentes en esta posición, desde no polar (por ejemplo, alanina) hasta polaridad neutra (por ejemplo, serina) y carga negativa o positiva (por ejemplo, aspartato o asparagina, respectivamente). Se entiende que la polaridad/carga del aminoácido en cualquier posición dada puede afectar la estructura proteica. Por ejemplo, se entiende que un cambio de la polaridad y la carga puede afectar la hidrofobicidad y la tendencia de un aminoácido a estar más expuesto en la superficie o más

enterrado. Más allá de esto, este hallazgo notable resalta que los cambios de aminoácidos no conservadores en la posición 74 de la cadena liviana pueden modificar la afinidad con una diana seleccionada en más de 10 veces. Por lo tanto, además de mejorar la afinidad como se detalla en la presente, el uso de este conocimiento puede ofrecer un nuevo enfoque para

5 aumentar o disminuir la afinidad más ampliamente. Por ejemplo, un método que comprende cambiar el residuo en la posición 74 de más polar a no polar, o, por ejemplo, de no polar a más cargado, puede ser de mayor preferencia que métodos complejos/engorrosos de mutagénesis, tales como mutagénesis de saturación, etc., cuando se desea aumentar o disminuir la afinidad con un anticuerpo dado.

10 En una forma de realización adicional de la invención se proporciona también un método para mutar un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este, que comprende proporcionar un anticuerpo que comprende una cadena liviana kappa que tiene una serina en la posición 74 de la secuencia variable de la cadena liviana de acuerdo con el sistema de numeración IMGT, y mutar la serina en un residuo diferente, por ejemplo, un aminoácido que no es de la

15 línea germinal humana y/o no polar, tal como una leucina. En algunas formas de realización, el anticuerpo es un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este. En algunas formas de realización, el anticuerpo es un anticuerpo que tiene una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al

20 menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a SEQ ID NO: 1 y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a SEQ ID NO: 26 tanto

25 antes como después de introducir la mutación en la posición 74 de la secuencia variable de la cadena liviana.

En algunas formas de realización, el anticuerpo es un anticuerpo que tiene una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al

30 menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a SEQ ID NO: 106 y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos que es al

menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a SEQ ID NO: 118 tanto antes como después de introducir la mutación en la posición 74 de la secuencia variable de la cadena liviana.

- 5 En algunas formas de realización, el anticuerpo es un anticuerpo que comprende:
una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 273 y una VL que
10 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 282 tanto antes como después de introducir la mutación;
15 una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 274 y una VL que
20 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 283 tanto antes como después de introducir la mutación;
una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos
25 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 275 y una VL que
comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos
30 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 284 tanto antes como después de

introducir la mutación;

una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 276 y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 285 tanto antes como después de

10 introducir la mutación;

una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 277 y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 286 tanto antes como después de introducir la mutación;

20 una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 278 y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 287 tanto antes como después de introducir la mutación;

25 una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %

30

o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 279 y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 288 tanto antes como después de introducir la mutación;

una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 280 y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 289 tanto antes como después de introducir la mutación;

una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 281 y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 290 tanto antes como después de introducir la mutación; o

una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 312 y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 %

idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 313 tanto antes como después de introducir la mutación.

En algunas formas de realización, el anticuerpo es un anticuerpo que comprende:

- una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 273 y una VL que
- 5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 282;
- una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 274 y una VL que
- comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 283;
- una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 275 y una VL que
- comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 284;
- 10 una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 276 y una VL que
- comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 285;
- una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 277 y una VL que
- comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 286;
- una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 278 y una VL que
- 15 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 287;
- una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 279 y una VL que
- comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 288;
- una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 280 y una VL que
- comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 289;
- 20 una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 281 y una VL que
- comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 290; o
- una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 312 y una VL que
- comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 313.

- El anticuerpo producido con tales métodos tiene 100 % de identidad con las secuencias de VH
- 25 y VL especificadas, con la excepción de la mutación en la posición 74.

- En algunas formas de realización, la mutación en la posición 74 aumenta la afinidad del
- anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este para un antígeno de *Macaca*
- fascicularis* (cyno) homólogo. El aumento de la afinidad del anticuerpo o fragmento de fijación
- al antígeno de este es relativa a la afinidad del anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno
- 30 de este antes de introducir la mutación (cuando se mide en condiciones iguales o
- sustancialmente iguales). En algunas formas de realización, el anticuerpo o fragmento de

fijación al antígeno de este es un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija a una cadena variable delta 1 (V δ 1) humana de un receptor de linfocitos T (TCR) $\gamma\delta$ (por ejemplo, SEQ ID NO: 272 y/o 306) antes y después de introducir la mutación, y el anticuerpo tiene mayor afinidad con una cadena variable delta 1 (V δ 1) de *Macaca fascicularis* de un receptor de linfocitos T (TCR) $\gamma\delta$ (por ejemplo, SEQ ID NO: 308) después de introducir la mutación.

En cualquier forma de realización, en el aminoácido en la posición 74 (de acuerdo con el sistema de numeración IMGT) de la secuencia variable de la cadena liviana puede ser preferentemente leucina.

10 **Secuencias de polinucleótidos y vectores de expresión**

En un aspecto de la invención, se proporciona un polinucleótido que codifica el anticuerpo anti-V δ 1 o anticuerpo multiespecífico o fragmento de la invención. En una forma de realización, el polinucleótido comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, tal como al menos 80 %, tal como al menos 90 %, tal como al menos 95 %, tal como al menos 99 % de identidad de secuencia con cualquiera de SEQ ID NO: 199 a 222, 224 a 247, 249 a 259 o 261 a 271. En una forma de realización adicional, el polinucleótido comprende o consiste en cualquiera de SEQ ID NO: 199 a 222, 224 a 247, 249 a 259 o 261 a 271. En un aspecto adicional se proporciona un cADN que comprende dicho polinucleótido.

En un aspecto de la invención se proporciona un polinucleótido que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, tal como al menos 80 %, tal como al menos 90 %, tal como al menos 95 %, tal como al menos 99 % de identidad de secuencia con cualquiera de las porciones de SEQ ID NO: 199 a 222, 224 a 247, 249 a 259 o 261 a 271 y que codifica CDR1, CDR2 y/o CDR3 del dominio variable de cadena inmunoglobulina codificado.

En un aspecto de la invención se proporciona un polinucleótido que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, tal como al menos 80 %, tal como al menos 90 %, tal como al menos 95 %, tal como al menos 99 % de identidad de secuencia con cualquiera de las porciones de SEQ ID NO: 199 a 222, 224 a 247, 249 a 259 o 261 a 271 y que codifica FR1, FR2, FR3 y/o FR4 del dominio variable de cadena inmunoglobulina codificado.

La presente invención también proporciona vectores de expresión y plásmidos que comprenden las secuencias de polinucleótidos de la invención. En algunas formas de realización, los vectores de expresión comprenden una secuencia que tiene al menos 70 %, tal como al menos 80 %, tal como al menos 90 %, tal como al menos 95 %, tal como al menos 99 % de identidad de secuencia con cualquiera de las porciones de SEQ ID NO: 199 a 222, 224 a 247, 249 a 259 o 261 a 271 y que codifica CDR1, CDR2 y/o CDR3 del dominio variable de cadena inmunoglobulina codificado.

tal como al menos 80 %, tal como al menos 90 %, tal como al menos 95 %, tal como al menos 99 % de identidad de secuencia o 100 % de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 199 a 222 o 249 a 259 (que codifican regiones pesadas variables). En algunas formas de realización, los vectores de expresión comprenden una secuencia que tiene al menos 70 %, tal como al menos 80 %, tal como al menos 90 %, tal como al menos 95 %, tal como al menos 99 % de identidad de secuencia o 100 % de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 224 a 247 o 261 a 271 (que codifican regiones livianas variables). Tales vectores de expresión pueden usarse en pares, al emparejar adecuadamente las secuencias variables de las cadenas pesada y liviana de acuerdo con el emparejamiento de diversas secuencias de aminoácidos que proporciona los anticuerpos de la invención divulgados en la presente. En algunas formas de realización, los vectores de expresión comprenden una secuencia que tiene al menos 70 %, tal como al menos 80 %, tal como al menos 90 %, tal como al menos 95 %, tal como al menos 99 % de identidad de secuencia o 100 % de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 199 a 222 o 249 a 259 (que codifican una región pesada variable) y comprenden además una secuencia que tiene al menos 70 %, tal como al menos 80 %, tal como al menos 90 %, tal como al menos 95 %, tal como al menos 99 % de identidad de secuencia o 100 % de identidad con cualquiera de SEQ ID NO: 224 a 247 o 261 a 271 (que codifican una región liviana variable). Nuevamente, las secuencias se pueden proporcionar en pares específicos descritos en la presente para codificar los anticuerpos de la invención.

La presente invención también proporciona secuencias de polinucleótidos y vectores de expresión y plásmidos que codifican todas las secuencias de anticuerpos divulgadas en la presente, incluso cualesquier secuencias de anticuerpos variantes divulgadas en la presente que comprenden opcionalmente una o más sustituciones de aminoácidos.

Los polinucleótidos y vectores de expresión de la invención también se pueden describir en referencia a la secuencia de aminoácidos codificada. Por lo tanto, en una forma de realización, el polinucleótido comprende o consiste en una secuencia que codifica la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO: 1 a 505.

Para expresar los anticuerpos, o fragmentos de fijación al antígeno de estos, los polinucleótidos que codifican cadenas livianas y pesadas de longitud parcial o completa, como se describen en la presente, se insertan en vectores de expresión de modo tal que los genes están ligados operativamente a secuencias de control de la transcripción y la traducción. Por

lo tanto, en un aspecto de la invención se proporciona un vector de expresión que comprende la secuencia de polinucleótidos definida en la presente. En una forma de realización, el vector de expresión comprende la región VH de cualquiera de SEQ ID NO: 199 a 222 o 249 a 259. En otra forma de realización, el vector de expresión comprende la región VL de cualquiera de SEQ ID NO: 224 a 247 o 261 a 271.

Se entenderá que las secuencias de nucleótidos descritas en la presente pueden comprender secuencias adicionales que codifican residuos de aminoácidos para ayudar con la traducción, purificación y detección, aunque se pueden usar secuencias alternativas según el sistema de expresión usado. Estas secuencias opcionales se pueden eliminar, modificar o sustituir si se adoptan estrategias alternativas de diseño, traducción, purificación o detección.

Se pueden realizar mutaciones al ADN o cADN que codifica polipéptidos que son silenciosas en cuanto a la secuencia de aminoácidos del polipéptido, pero que proporcionan codones preferidos para la traducción en un huésped particular. Son conocidos los codones preferidos para traducción de un ácido nucleico en, por ejemplo, *E. coli* y *S. cerevisiae*, así como de mamífero, específicamente ser humano.

La mutación de polipéptidos se puede lograr por ejemplo mediante sustituciones, adiciones o eliminaciones en un ácido nucleico que codifica el polipéptido. Las sustituciones, adiciones o eliminaciones en un ácido nucleico que codifica el polipéptido se pueden introducir mediante muchos métodos, que incluyen por ejemplo, PCR propensa a errores, intercambio, mutagénesis dirigida por oligonucleótidos, PCR de ensamblaje, mutagénesis de PCR, mutagénesis *in vivo*, mutagénesis de casete, mutagénesis progresiva de conjunto, mutagénesis exponencial de conjunto, mutagénesis de sitio específico, reensamblaje génico, síntesis génica artificial, mutagénesis de saturación de sitio de gen (GSSM), reensamblaje de ligadura sintética (SLR) o una combinación de estos métodos. Las modificaciones, adiciones o eliminaciones en un ácido nucleico también se pueden introducir mediante un método que comprende recombinación, recombinación de secuencia progresiva, mutagénesis de ADN modificada por fosfotioato, mutagénesis de plantilla que contiene uracilo, mutagénesis dúplex espaciada, mutagénesis de reparación de error de apareamiento puntual, mutagénesis de cepa huésped con deficiencia de reparación, mutagénesis química, mutagénesis radiogénica, mutagénesis de eliminación, mutagénesis de restricción-selección, mutagénesis de restricción-purificación, mutagénesis de ensamblaje, creación de multímero de ácido nucleico

quimérico o una combinación de estos.

En particular, se puede usar síntesis génica artificial. Un gen que codifica un polipéptido de la invención puede producirse sintéticamente mediante, por ejemplo, síntesis de ADN en fase sólida. Genes enteros se pueden sintetizar *de novo*, sin la necesidad de ADN de plantilla precursor. Para obtener el oligonucleótido deseado, los bloques de construcción se acoplan secuencialmente a la cadena de oligonucleótidos creciente en el orden requerido por la secuencia del producto. Tras completar el ensamble de cadena, el producto se libera de la fase sólida a la solución, se desprotege y se recolecta. Los productos se pueden aislar mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) para obtener los oligonucleótidos deseados con alta pureza.

Los vectores de expresión incluyen, por ejemplo, plásmidos, retrovirus, cósmidos, cromosomas artificiales de levadura (YAC) y episomas derivados de virus de Epstein-Barr (EBV). El polinucleótido se liga en un vector de modo que tales secuencias de control de la transcripción y la traducción dentro del vector cumplan con su función prevista de regular la transcripción y la traducción del polinucleótido. Las secuencias de expresión y/o control pueden incluir promotores, potenciadores, terminadores de transcripción, un codón de inicio (es decir, ATG) 5' a la secuencia codificante, señales de empalme para intrones y codones de detención. El vector de expresión y las secuencias de control de expresión se seleccionan de modo que sean compatibles con la célula huésped de expresión usada. Por ejemplo, las secuencias pueden comprender secuencias de nucleótidos que codifican versiones de fragmentos variables monocatenarios de los anticuerpos de la invención, que comprenden una región VH y una región VL unidas por un ligador sintético (por ejemplo, que codifica SEQ ID NO: 291). Se entenderá que los polinucleótidos o vectores de expresión de la invención pueden comprender la región VH, la región VL o ambas (incluido opcionalmente el ligador). Por lo tanto, los polinucleótidos que codifican las regiones VH y VL se pueden insertar en vectores separados, alternativamente las secuencias que codifican ambas regiones se insertan en el mismo vector de expresión. Los polinucleótidos se insertan en el vector de expresión mediante métodos estándar (por ejemplo, ligadura de sitios de restricción complementarios en el polinucleótido y vector, o ligadura de extremo romo si no hay sitios de restricción).

Un vector conveniente es uno que codifica una secuencia de inmunoglobulina CH o CL

humana funcionalmente completa, con sitios de restricción adecuados diseñados por ingeniería genética para que cualquier secuencia VH o VL pueda insertarse y expresarse fácilmente, como se describe en la presente. El vector de expresión también puede codificar un péptido de señal que facilita la secreción del anticuerpo (o fragmento de fijación al antígeno de este) a partir de una célula huésped. El polinucleótido puede clonarse en el vector de modo que el péptido de señal quede ligado en el marco al terminal amino del anticuerpo. El péptido de señal puede ser un péptido de señal de inmunoglobulina o un péptido de señal heteróloga (es decir, un péptido de señal de una proteína que no es inmunoglobulina).

En un aspecto de la invención se proporciona una célula (por ejemplo, una célula huésped, tal como una célula huésped recombinante) que comprende el polinucleótido o vector de expresión como se define en la presente. Se entenderá que la célula puede comprender un primer vector que codifica la cadena liviana del anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este, y un segundo vector que codifica la cadena pesada del anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este. Alternativamente, tanto la cadena pesada como la liviana codifican en el mismo vector de expresión introducido en la célula.

En una forma de realización, el polinucleótido o vector de expresión codifica un anclaje de membrana, o dominio transmembrana fusionado al anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este se presenta en una superficie extracelular de la célula.

La transformación puede ser mediante cualquier método conocido para introducir polinucleótidos en una célula huésped. En la técnica se conocen métodos para introducir polinucleótidos heterólogos en células de mamíferos y estos métodos incluyen transfección mediada por dextrano, precipitación de fosfato de calcio, transfección mediada por polibreno, fusión de protoplastos, electroporación, encapsulación de los polinucleótidos en liposomas, inyección biolística y microinyección directa del ADN en núcleos. Además, se pueden introducir moléculas de ácido nucleico en células de mamíferos mediante vectores virales.

Las líneas de células de mamíferos disponibles como huéspedes para la expresión son bien conocidas en la técnica e incluyen muchas líneas celulares inmortalizadas disponibles en la American Type Culture Collection (ATCC). Estas incluyen, entre otros, células de ovario de hámster chino (CHO), NSO, células SP2, células HeLa, células de riñón de hámster bebé (BHK), células de riñón de mono (COS), células de carcinoma hepatocelular humano (por

ejemplo, Hep G2), células A549, células 3T3 y varias otras líneas celulares. Las células huésped de mamíferos incluyen células humanas, bovinas y de ratón, rata, perro, mono, cerdo, cabra, caballo y hámster. Las líneas celulares de preferencia particular se seleccionan a través de determinar qué líneas celulares tienen niveles altos de expresión. Otras líneas celulares que se pueden utilizar son líneas celulares de insecto, tales como células Sf9, células de anfibio, células bacterianas, células vegetales y células fúngicas. Los fragmentos de fijación al antígeno de anticuerpos, tales como los fragmentos scFv y Fv, se pueden aislar y expresar en *E. coli* con métodos conocidos en la técnica.

Los anticuerpos se producen al cultivar las células huésped durante un período de tiempo suficiente para permitir la expresión del anticuerpo en las células huésped o, con mayor preferencia, la secreción del anticuerpo en el medio de cultivo en el que se cultivan las células huésped. Luego, los anticuerpos se pueden recuperar del medio de cultivo con métodos estándar de purificación de proteínas.

Los anticuerpos (o fragmentos) de la invención se pueden obtener y manipular con las técnicas divulgadas para el ejemplo en Green y Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2012) 4.^a Edición Cold Spring Harbour Laboratory Press.

Los anticuerpos monoclonales pueden producirse con tecnología de hibridoma, al fusionar un linfocito B que produce anticuerpos específico con una célula de mieloma (cáncer de linfocitos B) que se selecciona por su capacidad para crecer en cultivo de tejido y por la ausencia de síntesis de cadena de anticuerpos.

Un anticuerpo monoclonal dirigido a un antígeno determinado puede, por ejemplo, obtenerse al:

- a) inmortalizar linfocitos obtenidos de la sangre periférica de un animal previamente inmunizado con un antígeno determinado, con una célula inmortal y preferentemente con células de mieloma, para formar un hibridoma,
- b) cultivar las células inmortalizadas (hibridoma) formadas y recuperar las células que producen los anticuerpos que tienen la especificidad deseada.

Alternativamente, no se requiere el uso de una célula de hibridoma. Los anticuerpos capaces de fijarse a los antígenos diana como se describen en la presente pueden aislarse de una colección de anticuerpos adecuada mediante prácticas de rutina, por ejemplo, con expresión en fago, expresión de levadura, expresión ribosómica o tecnología de expresión en mamíferos

conocida en la técnica. En consecuencia, los anticuerpos monoclonales pueden obtenerse, por ejemplo, mediante un proceso que comprende las etapas de:

- a) clonar en vectores, especialmente en fago y más particularmente bacteriófagos filamentosos, secuencias de ADN o cADN obtenidas de linfocitos, especialmente linfocitos de sangre periférica de un animal (inmunizados previamente de manera adecuada con antígenos determinados),
- b) transformar las células procariotas con los vectores anteriores en condiciones que permiten la producción de los anticuerpos,
- c) seleccionar los anticuerpos al someterlos a la selección de afinidad con antígeno,
- 10 d) recuperar los anticuerpos que tienen la especificidad deseada.

Opcionalmente, también se puede elaborar fácilmente un polinucleótido aislado que codifica los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos como se describen en la presente y que se fijan a la cadena V δ 1 de una $\gamma\delta$ con el fin de generar cantidades suficientes para su uso como medicamento para mejorar los signos o síntomas de una enfermedad.

- 15 Cuando se emplean como un medicamento de esta manera, los polinucleótidos de interés por lo general se ligan primero operativamente a un vector de expresión o casete de expresión diseñado para expresar dichos anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos en un sujeto o paciente. En la técnica se conocen tales casetes de expresión y métodos de administración de polinucleótidos o los que a veces se denominan medicamentos “basados en
- 20 ácido nucleico”. Se puede encontrar una reseña reciente en Hollevoet y Declerck (2017) J. Transl. Med. 15(1): 131.

- También se proporciona un método para la producción de un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno o variante de este, que comprende cultivar una célula huésped de la invención en un medio de cultivo celular en condiciones para expresar la secuencia de ácidos
- 25 nucleicos codificado del plásmido o vector dentro de la célula. El método puede comprender además obtener el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno o variante de este del sobrenadante de cultivo celular. Los anticuerpos obtenidos puede luego formularse en una composición farmacéutica. Además, se proporciona un método para producir una célula que expresa un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno o variante de este, que
- 30 comprende transfectar dicha célula con un plásmido o vector de la invención. Dichas células luego pueden cultivarse para la producción del anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al

antígeno o variante de este.

Composiciones farmacéuticas

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición que comprende el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente. En tales formas de realización, la composición puede comprender el anticuerpo, opcionalmente en combinación con otros excipientes. También se incluyen composiciones que comprenden uno o más agentes activos adicionales (por ejemplo, agentes activos adecuados para tratar las enfermedades mencionadas en la presente).

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente, junto con un diluyente o portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico. Los anticuerpos de la invención pueden incorporarse en composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración a un sujeto. Por lo general, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo de la invención y un portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico. Como se usa en la presente, “portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico” incluyen todos y cada uno de los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y agentes retardadores de la absorción y similares que sean fisiológicamente compatibles. Los ejemplos de portadores aceptables desde el punto de vista farmacéutico incluyen uno o más de agua, solución salina, sales, solución salina amortiguada con fosfato, dextrosa, glicerol, etanol y similares, así como combinaciones de estos. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes, tales como manitol, sorbitol o cloruro de sodio en la composición. Las sustancias aceptables desde el punto de vista farmacéutico tales como humectantes o cantidades menores de sustancias auxiliares tales como agentes humectantes o emulsionantes, conservantes o amortiguadores, que mejoran la vida útil o eficacia del anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este.

Las composiciones de la presente invención pueden estar en diversas formas. Estas incluyen, por ejemplo, formas de dosis líquidas, semisólidas y sólidas, tales como soluciones líquidas (por ejemplo, soluciones inyectables o infundibles), dispersiones o suspensiones, comprimidos, píldoras, polvos, liposomas y supositorios. La forma preferida depende del modo de administración y la aplicación terapéutica previstos. Las composiciones preferidas típicas

están en forma de soluciones inyectables o infundibles.

El modo de administración preferido es parenteral (por ejemplo, intravenoso, subcutáneo, intraperitoneal, intramuscular, intratecal). En una forma de realización preferida, el anticuerpo se administra mediante infusión intravenosa o inyección. En otra forma de realización preferida, el anticuerpo se administra mediante inyección intramuscular o subcutánea.

Por lo general, las composiciones terapéuticas deben ser estériles y estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición puede formularse como una solución, microemulsión, dispersión, liposoma u otra estructura ordenada adecuada para una concentración farmacológica alta.

10 Dentro del alcance de la invención se encuentra el uso de la composición farmacéutica de la invención en métodos terapéuticos para el tratamiento de enfermedades como se describen en la presente como un complemento de, o en conjunto con, otros tratamientos establecidos usados normalmente en el tratamiento de tales enfermedades.

15 En un aspecto adicional de la invención, el anticuerpo, la composición o la composición farmacéutica se administra de manera secuencial, simultánea o separada con al menos un agente activo.

Métodos de tratamiento

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un anticuerpo anti-Vδ1 aislado o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente para su uso como un medicamento. Las referencias en la presente a un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este “para su uso” como un medicamento o en tratamiento están limitadas a la administración del anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este a un sujeto.

En una forma de realización, el anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este es para su uso en el tratamiento contra el cáncer, una enfermedad infecciosa o una enfermedad inflamatoria. En una forma de realización, la invención es un método para tratar una enfermedad o un trastorno en un sujeto que lo necesite, que comprende la etapa de administrar un anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este al sujeto. En diversas formas de realización, la enfermedad o trastorno es cáncer, una enfermedad infecciosa o una enfermedad inflamatoria. En una forma de realización, el anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este es para su uso en el tratamiento contra el cáncer, una enfermedad infecciosa o una enfermedad inflamatoria, y conduce a la muerte de las

células enfermas mientras preserva las células sanas. En una forma de realización adicional, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este es para su uso en el tratamiento contra el cáncer.

5 En una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este es para su uso en el tratamiento contra el cáncer, una enfermedad infecciosa o una enfermedad inflamatoria. En una forma de realización adicional, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este es para su uso en el tratamiento contra el cáncer.

10 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona la composición farmacéutica como se define en la presente para su uso como un medicamento. En una forma de realización, la composición farmacéutica es para su uso en el tratamiento contra el cáncer, una enfermedad infecciosa o una enfermedad inflamatoria. En una forma de realización adicional, la composición farmacéutica es para su uso en el tratamiento contra el cáncer.

15 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un método para modular una respuesta inmunitaria en un sujeto que lo necesite que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-V δ 1 aislado o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente. En diversas formas de realización, modular una respuesta inmunitaria en un sujeto comprende fijar o dirigir los linfocitos T $\gamma\delta$, activar los linfocitos T $\gamma\delta$, causar o aumentar la proliferación de los linfocitos T $\gamma\delta$, causar o aumentar la expansión de los linfocitos T $\gamma\delta$, causar o aumentar la desgranulación de los linfocitos T $\gamma\delta$,
20 causar o aumentar la actividad de inactivación mediada por los linfocitos T $\gamma\delta$, causar o aumentar la actividad de inactivación mediada por los linfocitos T $\gamma\delta$ mientras se preservan las células sanas, causar o aumentar la citotoxicidad de los linfocitos T $\gamma\delta$, causar o aumentar la citotoxicidad de los linfocitos T $\gamma\delta$ mientras se preservan las células sanas, causar o aumentar la movilización de los linfocitos T $\gamma\delta$, aumentar la supervivencia de los linfocitos T $\gamma\delta$ o
25 aumentar la resistencia al agotamiento de los linfocitos T $\gamma\delta$. Modular la respuesta inmunitaria en un sujeto puede comprender además la fijación o el direccionamiento al segundo antígeno. Por ejemplo, en algunas formas de realización, la fijación del segundo antígeno, en particular cuando es un antígeno inmunomodulador, puede estimular la inmunomodulación a través del segundo antígeno, además de la inmunomodulación a través de la fijación del anticuerpo
30 multiespecífico a TRDV1. Por lo tanto, la modulación de la respuesta inmunitaria puede comprender la modulación a través de dos vías de señalización diferentes, una primera vía de

señalización modulada a través del acoplamiento del antígeno TRDV1 y una segunda vía de señalización modulada a través del acoplamiento de un segundo antígeno inmunomodulador.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un método para tratar un tipo de cáncer, una enfermedad infecciosa o una enfermedad inflamatoria en un sujeto que lo
5 necesite, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-Vδ1 aislado o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente. Alternativamente, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica.

De acuerdo con aspectos adicionales de la invención, se proporciona el uso de un anticuerpo
10 o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente para la elaboración de un medicamento, por ejemplo, en el tratamiento contra el cáncer, una enfermedad infecciosa o una enfermedad inflamatoria.

En una forma de realización, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este se
15 administra a un sujeto, en donde el sujeto tiene cáncer, una enfermedad infecciosa o una enfermedad inflamatoria.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona la composición farmacéutica como se define en la presente para su uso como un medicamento. En una forma de realización, la composición farmacéutica se administra a un sujeto, en donde el sujeto tiene
cáncer, una enfermedad infecciosa o una enfermedad inflamatoria.

20 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un método para administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo anti-Vδ1 aislado o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente a un sujeto, en donde el sujeto tiene cáncer, una enfermedad infecciosa o una enfermedad inflamatoria. Alternativamente, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica.

25 De acuerdo con aspectos adicionales de la invención, se proporciona el uso de un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente para la elaboración de un medicamento, por ejemplo, para la administración a un sujeto, en donde el sujeto tiene cáncer, una enfermedad infecciosa o una enfermedad inflamatoria.

En diversas formas de realización, el tipo de cáncer que se puede tratar con los métodos y
30 composiciones divulgados incluyen, entre otros, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, carcinoma adrenocortical, cáncer de apéndice, carcinoma de células basales,

cáncer de las vías biliares, cáncer de vejiga, cáncer de hueso, osteosarcoma e histiocitoma fibroso maligno, glioma del tronco encefálico, tumor cerebral, tumor teratoideo/rabdoideo atípico del sistema nervioso central, tumores embrionales del sistema nervioso central, astrocitoma cerebeloso, astrocitoma cerebral/glioma maligno, craneofaringioma, 5
ependimoblastoma, ependimoma, meduloblastoma, meduloepitelioma, tumores pineales parenquimatosos de diferenciación intermedia, tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales y pineoblastoma, glioma hipotalámico y de la vía óptica, tumores cerebrales y de médula espinal, cáncer de mama, tumores bronquiales, Linfoma de Burkitt, tumor carcinoide, tumor carcinoide gastrointestinal, tumor teratoideo/rabdoideo atípico del sistema 10
nervioso central, tumores embrionales del sistema nervioso central, linfoma del sistema nervioso central, astrocitoma cerebeloso, astrocitoma cerebral/glioma maligno, cáncer de cuello uterino, cordoma, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica, trastornos mieloproliferativos crónicos, cáncer de colon, cáncer colorrectal, craneofaringioma, linfoma cutáneo de linfocitos T, cáncer de esófago, tumores de la familia de Ewing, tumor 15
extragonadal de células germinales, cáncer extrahepático de las vías biliares, melanoma intraocular, retinoblastoma, cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico (de estómago), tumor carcinoide gastrointestinal, tumores del estroma gastrointestinal (GIST), tumor de células germinales, tumor trofoblástico gestacional, glioma, glioma del tronco encefálico, astrocitoma cerebral, glioma hipotalámico y de la vía óptica, leucemia de células pilosas, cáncer de cabeza 20
y cuello, cáncer hepatocelular (de hígado), histiocitosis de células de Langerhans, linfoma de Hodgkin, cáncer hipofaríngeo, glioma hipotalámico y de la vía óptica, melanoma intraocular, tumores de células de islotes, cáncer de riñón (de células renales), histiocitosis de células de Langerhans, cáncer de laringe, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica, leucemia de células pilosas, cáncer 25
de labio y cavidad oral, cáncer de hígado, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de pulmón de células pequeñas, linfoma relacionado con el SIDA, linfoma de Burkitt, linfoma cutáneo de linfocitos T, linfoma no Hodgkin, linfoma primario del sistema nervioso central, macroglobulinemia de Waldenstrom, histiocitoma fibroso maligno óseo y osteosarcoma, meduloblastoma, melanoma, carcinoma de células de Merkel, mesotelioma, cáncer de cuello 30
escamoso metastásico con sitio primario oculto, cáncer de boca, síndrome de neoplasia endocrina múltiple, mieloma múltiple/neoplasia de células plasmáticas, micosis fungoide,

síndromes mielodisplásicos, enfermedades mielodisplásicas/mieloproliferativas, leucemia mielógena, leucemia mieloide, leucemia mieloide aguda, mieloma múltiple, trastornos mieloproliferativos, cáncer de cavidad nasal y de seno paranasal, cáncer de nasofaringe, neuroblastoma, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer oral, cáncer de cavidad oral, cáncer de orofaringe, osteosarcoma e histiocitoma fibroso maligno óseo, cáncer de ovario, cáncer epitelial de ovario, tumor de células germinales de ovario, tumor de bajo potencial maligno de ovario, cáncer de páncreas, papilomatosis, cáncer de paratiroides, cáncer de pene, cáncer de faringe, feocromocitoma, tumores pineales parenquimatosos de diferenciación intermedia, tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales y pineoblastoma, tumor pituitario, neoplasia de células plasmáticas/mieloma múltiple, blastoma pleuropulmonar, linfoma primario del sistema nervioso central, cáncer de próstata, cáncer rectal, cáncer de células renales (de riñón), de pelvis renal y uréter, carcinoma de la vía respiratoria que involucra el gen *nut* en el cromosoma 15, retinoblastoma, rabdomiosarcoma, cáncer de glándulas salivales, sarcoma, tumores de la familia de Ewing, sarcoma de Kaposi, sarcoma de tejidos blandos, sarcoma uterino, síndrome de Sézary, cáncer de piel (no melanoma), cáncer de piel (melanoma), carcinoma de células de Merkel, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de intestino delgado, sarcoma de tejidos blandos, carcinoma de células escamosas, cáncer de cuello escamoso, cáncer de estómago (gástrico), tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, linfoma de linfocitos T, cáncer de testículo, cáncer de garganta, timoma y carcinoma tímico, cáncer de tiroides, cáncer de células de transición de la pelvis renal y el uréter, tumor trofoblástico gestacional, cáncer de uretra, cáncer de útero, sarcoma de útero, cáncer de vagina, cáncer de vulva, macroglobulinemia de Waldenström y tumor de Wilms. En diversas formas de realización, el cáncer que puede tratarse con los métodos y composiciones divulgados se trata mientras se preservan las células sanas.

En diversas formas de realización, las enfermedades inflamatorias que pueden tratarse mediante los métodos y composiciones divulgados incluyen, entre otras, acalasia, encefalomiелitis diseminada aguda (ADEM), neuropatía axonal motora aguda, síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS), enfermedad de Addison, adiposis dolorosa, enfermedad de Still del adulto, enfermedad de Still de inicio en la adultez, agammaglobulinemia, alopecia areata, amiloidosis, esclerosis lateral amiotrófica, espondilitis anquilosante, nefritis anti-

GBM/anti-TBM, encefalitis del receptor anti-N-metil-D-aspartato (anti-NMDA), síndrome antifosfolípido, síndrome antifosfolípido (APS, APLS), síndrome antisintetasa, nefritis de membrana basal antitubular, anemia aplásica, alergia atópica, dermatitis atópica, angioedema autoinmunitario, comorbilidades autoinmunitarias, disautonomía autoinmunitaria, 5 encefalomiелitis autoinmunitaria, enteropatía autoinmunitaria, anemia hemolítica autoinmunitaria, hepatitis autoinmunitaria, enfermedad autoinmunitaria del oído interno (AIED), síndrome linfoproliferativo autoinmunitario, miocarditis autoinmunitaria, neutropenia autoinmunitaria, ooforitis autoinmunitaria, orquitis autoinmunitaria, pancreatitis autoinmunitaria (AIP), neuropatía periférica autoinmunitaria, síndrome poliendocrino autoinmunitario (APS) 10 tipo 1, síndrome poliendocrino autoinmunitario (APS) tipo 2, síndrome poliendocrino autoinmunitario (APS) tipo 3, retinopatía autoinmunitaria, púrpura trombocitopénica autoinmunitaria, tiroiditis autoinmunitaria, urticaria autoinmunitaria, uveítis autoinmunitaria, vasculitis autoinmunitaria, neuropatía axonal y neuronal (AMAN), esclerosis concéntrica de Baló, enfermedad de Baló, enfermedad de Behcet, penfigoide benigno de la mucosa, 15 encefalitis de Bickerstaff, síndrome de Blau, penfigoide ampoloso, enfermedad de Castleman (CD), enfermedad celíaca, enfermedad de Chagas, síndrome de fatiga crónica, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP), enfermedad pulmonar obstructiva crónica, osteomielitis multifocal crónica recurrente (CRMO), síndrome de Churg-Strauss (CSS) o granulomatosis eosinofílica (EGPA), penfigoide cicatricial, síndrome de Cogan, enfermedad 20 por crioaglutininas, deficiencia del componente del complemento 2, síndrome de dolor regional complejo, bloqueo cardíaco congénito, tejido conectivo, sistémico y multiorgánico, dermatitis de contacto, miocarditis Cocksackie, síndrome de CREST, enfermedad de Crohn, síndrome de Cushing, angitis cutánea leucocitoclástica, enfermedad de Dego, dermatitis herpetiforme, dermatomiositis, enfermedad de Devic (neuromielitis óptica), diabetes melitus tipo 1, sistema 25 digestivo, lupus discoide, síndrome de Dressler, lupus inducido por fármacos, eczema, endometriosis, artritis relacionada con entesitis, esofagitis eosinofílica (EoE), fascitis eosinofílica, gastroenteritis eosinofílica, granulomatosis eosinofílica con poliangéitis (EGPA), neumonía eosinofílica, epidermólisis ampollosa adquirida, eritema nudoso, eritroblastosis fetal, acalasia esofágica, crioglobulinemia esencial mixta, síndrome de Evans, exocrino, síndrome 30 de Felty, fibrodisplasia osificante progresiva, fibromialgia, alveolitis fibrosante, gastritis, penfigoide gastrointestinal, arteritis de células gigantes (arteritis temporal), miocarditis de

células gigantes, glomerulonefritis, síndrome de Goodpasture, granulomatosis con poliangéitis, oftalmopatía de Graves, enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barré, tiroiditis de Hashimoto, encefalopatía de Hashimoto, anemia hemolítica, púrpura de Henoch-Schonlein (HSP), herpes gestacional o penfigoide gestacional (PG), hidradenitis supurativa (HS) (acné inverso), hipogammaglobulinemia, miocarditis idiopática de células gigantes, enfermedades desmielinizantes inflamatorias idiopáticas, fibrosis pulmonar idiopática, nefropatía por IgA, vasculitis por IgA (IgAV), enfermedad relacionada con IgG4, enfermedad esclerosante relacionada con IgG4, púrpura trombocitopénica inmunitaria (ITP), miositis por cuerpos de inclusión (IBM), enfermedad inflamatoria intestinal, uveítis intermedia, cistitis intersticial (IC), enfermedad pulmonar intersticial, síndrome de IPEX, artritis juvenil, diabetes juvenil (diabetes tipo 1), miositis juvenil (JM), enfermedad de Kawasaki, síndrome de Lambert-Eaton, vasculitis leucocitoclástica, liquen plano, liquen escleroso, conjuntivitis leñosa, enfermedad de IgA lineal (LAD), lupus, nefritis lúpica, vasculitis lúpica, enfermedad de Lyme crónica, síndrome de Majeed, enfermedad de Meniere, poliangéitis microscópica (MPA), enfermedad mixta del tejido conectivo (MCTD), úlcera de Mooren, morfea, enfermedad de Mucha-Habermann, neuropatía motora multifocal (MMN) o MMNCB, esclerosis múltiple, miastenia grave, miositis, miocarditis, miositis, narcolepsia, lupus neonatal, sistema nervioso, neuromielitis óptica, neuromiotonía, neutropenia, penfigoide cicatricial ocular, síndrome de opsoclono mioclono, neuritis óptica, tiroiditis de Ord, síndrome de Oshtoran, reumatismo palindrómico (PR), degeneración cerebelosa paraneoplásica (PCD), hemoglobinuria paroxística nocturna (PNH), síndrome de Parry Romberg, síndrome de Parsonage-Turner, pars planitis (uveítis periférica), trastorno neuropsiquiátrico autoinmunitario pediátrico asociado con estreptococo (PANDAS), enfermedad inflamatoria pélvica (PID), pénfigo, pénfigo vulgar, neuropatía periférica, encefalomiелitis perivenosa, anemia perniciosa (PA), pitiriasis liquenoide y varioliforme aguda, síndrome de POEMS, poliarteritis nodosa, síndromes poliglandulares tipo I, II, III, polimialgia reumática, polimiositis, síndrome posinfarto de miocardio, síndrome pospericardiotomía, colangitis biliar primaria (PBC), cirrosis biliar primaria, inmunodeficiencia primaria, colangitis esclerosante primaria, dermatitis por progesterona, neuropatía inflamatoria progresiva, psoriasis, artritis psoriásica, aplasia pura de glóbulos rojos (PRCA), pioderma gangrenoso, encefalitis de Rasmussen, fenómeno de Raynaud, artritis reactiva, distrofia simpática refleja, policondritis recidivante, síndrome de piernas inquietas (RLS), fibrosis

retroperitoneal, fiebre reumática, artritis reumatoide, vasculitis reumatoide, sarcoidosis, esquizofrenia, síndrome de Schmidt, síndrome de Schnitzler, escleritis, esclerodermia, enfermedad del suero, síndrome de Sjögren, autoinmunidad testicular espermática, espondiloartropatía, síndrome de la persona rígida (SPS), endocarditis bacteriana subaguda
 5 (SBE), síndrome de Susac, síndrome de Sweet, corea de Sydenham, oftalmía simpática (SO), lupus eritematoso sistémico, arteritis de Takayasu, arteritis temporal/arteritis de células gigantes, trombocitopenia, púrpura trombocitopénica (TTP), glándula tiroides, síndrome de Tolosa-Hunt (THS), mielitis transversa, diabetes tipo 1, colitis ulcerosa (UC), enfermedad indiferenciada del tejido conectivo (UCTD), espondiloartropatía indiferenciada, vasculitis
 10 urticariana, urticaria, uveítis, vasculitis, vitíligo y enfermedad de Vogt-Koyanagi-Harada. En diversas formas de realización, se trata la enfermedad inflamatoria que puede tratarse mediante los métodos y composiciones divulgados, mientras que se preservan las células sanas.

En diversas formas de realización, la enfermedad infecciosa que puede tratarse mediante los
 15 métodos y composiciones divulgados incluye, entre otras, infección de *Acinetobacter*, actinomicosis, mielitis flácida aguda (AFM), enfermedad del sueño africana (tripanosomiasis africana), SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida), infección de ameba, amebiasis, infección por *Anaplasma phagocytophilum*, anaplasmosis, angiostrongiliasis, anisakiasis, ántrax, enfermedades arbovirales, neuroinvasivas y no neuroinvasivas, infección por
 20 *Arcanobacterium haemolyticum*, fiebre hemorrágica argentina, ascariasis, aspergilosis, infección por astrovirus, gripe aviar, babesiosis, infección por *Bacillus cereus*, infección bacteriana, meningitis bacteriana, neumonía bacteriana, vaginosis bacteriana, infección por bacteroides, balantidiasis, bartonelosis, infección por *Baylisascaris*, infección por virus BK, piedra negra, blastocistosis, fiebre hemorrágica boliviana, botulismo, botulismo (transmitido
 25 por los alimentos), botulismo (infantil), botulismo (otro), botulismo (herida), fiebre hemorrágica brasilera, brucelosis, peste bubónica, infección por *Burkholderia*, úlcera de Buruli, infección por calicivirus (norovirus y sapovirus), enfermedades por virus del serogrupo California, campilobacter, campilobacteriosis, *Candida auris*, candidiasis clínica (moniliasis; candidiasis), capilariasis, enterobacteriáceas resistentes a carbapenémicos que producen carbapenemasas
 30 (CP-CRE), infección resistente a carbapenémicos (CRE/CRPA), enfermedad de Carrión, enfermedad por arañazo de gato, celulitis, enfermedad de Chagas (tripanosomiasis),

chancroide, varicela, infección por el virus Chikungunya (Chikungunya), clamidia, *Chlamydia trachomatis*, infección por *Chlamydomydia pneumoniae*, cólera, cromoblastomycosis, quitridiomycosis, ciguatera, clonorchiasis, colitis por *Clostridium difficile*, infección por *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, infección micótica por coccidioidomycosis (fiebre del valle), fiebre por garrapatas de Colorado (CTF), resfriado común (rinofaringitis viral aguda; coriza aguda), sífilis congénita, conjuntivitis, COVID-19 (enfermedad por coronavirus 2019), CP-CRE, *Enterobacter* spp., CP-CRE, *Escherichia coli* (*E. coli*), CP-CRE, *Klebsiella* spp., enfermedad de Creutzfeldt-Jacob, encefalopatía espongiiforme transmisible (CJD), enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD), fiebre hemorrágica de Crimea-Congo (CCHF), sarna

10 costrosa, criptococosis, criptosporidiosis (cripto), larva migrans cutánea (CLM), ciclospora, ciclosporiasis, cisticercosis, infección por citomegalovirus, infección por virus del dengue, dengue, 1, 2, 3, 4 (fiebre del dengue), enfermedad similar al dengue, infección por desmodermus, enfermedad diarreica, dientamoebiasis, difteria, difilobotriasis, dracunculiasis, *E. coli*, infección por *E. coli*, productora de la toxina Shiga (STEC), enfermedad por el virus de

15 encefalitis equina del este, fiebre hemorrágica del Ébola (Ébola), equinococosis, infección por *Ehrlichia chaffeensis*, infección por *Ehrlichia ewingii*, ehrlichiosis, anaplasmosis, encefalitis, arboviral o parainfecciosa, enterobiasis (infección por lombriz intestinal), infección por enterococo, infección por enterovirus, D68 (EV-D68), infección por enterovirus, no polio (enterovirus no polio), tifus epidémico, mononucleosis infecciosa por el virus Epstein-Barr

20 (mono), eritema infeccioso (quinta enfermedad), exantema súbito (sexta enfermedad), fasciolosis, fasciolopsiasis, insomnio familiar fatal (FFI), quinta enfermedad, filariasis, gripe (estacional), intoxicación por alimentos, intoxicación por alimentos por *Clostridium perfringens*, infección amebiana de vida libre, infección micótica, infección por *fusobacterium*, gangrena gaseosa (mionecrosis clostridial), herpes genital, verrugas genitales, geotricosis, rubéola,

25 síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS), giardiasis, muermo, gnatostomiasis, gonorrea, granuloma inguinal, granuloma inguinal (donovanosis), infección estreptocócica del grupo A, estreptococo del grupo A, infección estreptocócica del grupo B, virus guaranito, enfermedad por *Haemophilus influenzae*, tipo B (influenza Hib o H), infección por *Haemophilus influenzae*, enfermedad de manos, pies y boca (HFMD), enfermedad de Hansen,

30 infección por hantavirus, síndrome pulmonar por hantavirus (SPH), enfermedad por virus de Heartland, infección por *Helicobacter pylori*, síndrome urémico hemolítico (HUS), fiebre

hemorrágica con síndrome renal (HFRS), infección por virus de Hendra, hepatitis A (Hep A), hepatitis B (Hep B), hepatitis C (Hep C), hepatitis D (Hep D), hepatitis E (Hep E), herpes, virus del herpes B, herpes simple, herpes zóster, VZV zóster (herpes), enfermedad por Hib, infección por histoplasmosis (histoplasmosis), infección por anquilostomiasis, HPV (virus del papiloma humano), infección por bocavirus humano, ehrlichiosis ewingii humana, anaplasmosis granulocítica humana (HGA), virus de inmunodeficiencia humana/SIDA (VIH/SIDA), infección por metaneumovirus humano, ehrlichiosis monocítica humana, infección por virus del papiloma humano (HPV), infección por virus de la parainfluenza humana, himenolepiasis, impétigo, influenza (gripe), influenza (estacional), enfermedad neumocócica invasiva, isosporiasis, virus Junín, síndrome de Kawasaki, queratitis, infección por *Kingella kingae*, kuru, fiebre de Lassa, virus de Lassa, legionelosis (enfermedad del legionario), leishmaniasis, lepra (enfermedad de Hansens), leptospirosis, listeriosis (listeria), virus de Lujo, enfermedad de Lyme, filariasis linfática (elefantiasis), coriomeningitis linfocítica (LCMV), infección por linfogranuloma venéreo (LGV), virus Machupo, malaria, infección por virus Marburg, sarampión, melioidosis (enfermedad de Whitmore), meningitis, meningitis bacteriana, meningitis viral, enfermedad meningocócica, metagonimiasis, microsporidiosis, síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS), molusco contagioso (MC), viruela de los monos, mononucleosis, enfermedad transmitida por mosquitos, MRSA, parotiditis, tifus murino (tifus endémico), micetona, infección por micoplasma genital, neumonía por micoplasma, miasis, *Neisseria meningitidis*, conjuntivitis neonatal (oftalmia neonatal), infección por virus Nipah, nocardiosis, norovirus, oncocercosis (ceguera de río), opistorquiasis, virus Orf (úlceras en la boca), paracoccidioidomicosis (blastomicosis sudamericana), paragonimiasis, intoxicación paralítica por mariscos (intoxicación paralítica por mariscos, ciguatera), pasteurellosis, PEP, infección parasítica, tosferina (tos convulsa), ojo rojo, enfermedad neumocócica, infección neumocócica, neumonía neumocística (PCP), neumonía, peste neumónica, poliomiелitis (polio), poliomiелitis, paralítica, infección por poliovirus, fiebre de Pontiac, enfermedad por el virus Powassan, infección por *Prevotella*, meningoencefalitis amebiana primaria (PAM), leucoencefalopatía multifocal progresiva, infección protozoaria, psitacosis (fiebre del loro), enfermedades de erupción pustular (viruela, viruela de los monos, viruela de las vacas), rabia, gusano ascáride, fiebre por mordedura de rata, enfermedades transmitidas en aguas recreativas, fiebre recidivante, infección por el virus sincitial respiratorio,

síndrome de Reye, rinosporidiosis, infección por rinovirus, infección por rickettsias, fiebre maculosa de las montañas Rocosas (fiebre maculosa de las montañas rocosas), fiebre del Valle del Rift (RVF), dermatofitosis, infección por rotavirus, rubéola, virus Sabiá, salmonela, infección por Salmonella Paratyphi, infección por Salmonella Typhi, salmonelosis, SARS (síndrome respiratorio agudo grave), sarna, escarlatina, esquistosomiasis, escombroides, septicemia, shock séptico, peste septicémica, síndrome respiratorio agudo grave (SARS), Escherichia coli productora de toxina Shiga, Shigela, Shigelosis, herpes, herpes (herpes zóster), viruela, úlceras en la boca (virus Orf), esporotricosis, rickettsiosis de fiebre maculosa, enfermedad del virus de encefalitis de San Luis, infección por estafilococo, infección por estafilococo (resistente a meticilina (MRSA)), intoxicación alimentaria por estafilococo, infección por estafilococo (intermedio a la vancomicina (VISA)), faringitis estreptocócica, enfermedad estreptocócica, grupo A (invasiva) (estreptocócica A (invasiva)), enfermedad estreptocócica, grupo B (estreptocócica-B), síndrome de shock tóxico estreptocócico, strongiloidiasis, panencefalitis esclerosante subaguda, sífilis, teniasis, infección por tétanos, enfermedades transmitidas por garrapatas, Tinea barbae, Tinea capitis, Tinea corporis, Tinea cruris, Tinea manum, Tinea nigra, Tinea pedis, Tinea unguium, Tinea versicolor, síndrome de shock tóxico, toxocariasis (larva migrans ocular (OLM)), toxocariasis (larva migrans visceral (VLM)), toxoplasmosis, tracoma, triquinosis, tricomoniasis, infección por triconosis (triquinosis), tricuriasis (infección por parásitos), tuberculosis (TB), tularemia (fiebre de los conejos), fiebre tifoidea, grupo D, tifus, fiebre tifus, infección por Ureaplasma urealyticum vaginosis, fiebre del Valle, variante de la enfermedad de Creutzfeldt–Jakob (vCJD, nvCJD), varicela (varicela), encefalitis equina venezolana, fiebre hemorrágica venezolana, Vibrio cholerae (cólera), enteritis por Vibrio parahaemolyticus, infección por Vibrio vulnificus, vibriosis, infección viral, fiebre hemorrágica viral, fiebre hemorrágica viral (Ébola, Lassa, Marburg), fiebres hemorrágicas virales (VHF), neumonía viral, enfermedad por el virus del Nilo Occidental, Enfermedad por el virus de la encefalitis equina del oeste, piedra blanca (tinea blanca), tos ferina, fiebre amarilla, yersenia (yersinia), infección por yersinia pseudotuberculosis, yersiniosis, Zeaspora, fiebre del Zika, virus del Zika, enfermedad congénita por el virus del Zika, enfermedad no congénita por el virus del Zika, infección por el virus del Zika (Zika), infección congénita por el virus del Zika, infección no congénita por el virus del Zika, no congénito, y cigomicosis. En diversas formas de realización, se trata la

enfermedad infecciosa que puede tratarse mediante los métodos y composiciones divulgados, mientras que se preservan las células sanas.

En una forma de realización, la invención es un método para activar al menos un linfocito T $\gamma\delta$ en un sujeto, que comprende la etapa de administrar un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente.

En una forma de realización, la invención es un método para causar o aumentar la proliferación de linfocitos T $\gamma\delta$ en un sujeto, que comprende la etapa de administrar al sujeto un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente.

En una forma de realización, la invención es un método para causar o aumentar la desgranulación de linfocitos T $\gamma\delta$ en un sujeto, que comprende la etapa de administrar al sujeto un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente.

En una forma de realización, la invención es un método para causar o aumentar la actividad de inactivación de los linfocitos T $\gamma\delta$ (por ejemplo, la actividad de inactivación mediada por los linfocitos T) en un sujeto, que comprende la etapa de administrar al sujeto un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente. En una forma de realización, la invención es un método para causar o aumentar la actividad de inactivación de los linfocitos T $\gamma\delta$ (por ejemplo, la actividad de inactivación mediada por los linfocitos T) en un sujeto, mientras se preservan las células sanas, que comprende la etapa de administrar al sujeto un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente.

En una forma de realización, la invención es un método para causar o aumentar la citotoxicidad de linfocitos T $\gamma\delta$ en un sujeto, que comprende la etapa de administrar al sujeto un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente. En una forma de realización, la invención es un método para causar o aumentar la citotoxicidad de linfocitos T $\gamma\delta$ en un sujeto, mientras se preservan las células sanas, que comprende la etapa de administrar al sujeto un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente.

En una forma de realización, la invención es un método para causar o aumentar la movilización de linfocitos T $\gamma\delta$ en un sujeto, que comprende la etapa de administrar al sujeto

un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente.

En una forma de realización, la invención es un método para aumentar la supervivencia de linfocitos T $\gamma\delta$ en un sujeto, que comprende la etapa de administrar al sujeto un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente.

En una forma de realización, la invención es un método para causar o aumentar la resistencia al agotamiento de linfocitos T $\gamma\delta$ en un sujeto, que comprende la etapa de administrar al sujeto un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en la presente.

- 10 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un método para estimular una respuesta inmunitaria en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este en una cantidad eficaz para estimular una respuesta inmunitaria.

Usos de anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos

- 15 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona el uso de un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este como se describe en la presente para estudiar el reconocimiento de antígenos, activación, transducción de señales o función de los linfocitos T $\gamma\delta$ (en particular linfocitos T V δ 1). Como se describe en la presente, se ha demostrado que los anticuerpos están activos en ensayos que se pueden utilizar para investigar la función de los linfocitos T $\gamma\delta$. Tales anticuerpos también pueden ser útiles para inducir la proliferación de linfocitos T $\gamma\delta$, por lo que se los puede usar en métodos para expandir los linfocitos T $\gamma\delta$ (tales como linfocitos T V δ 1).

- 20 Se pueden usar anticuerpos que se fijan a la cadena V δ 1 para detectar linfocitos T $\gamma\delta$. Por ejemplo, el anticuerpo se puede etiquetar con una etiqueta detectable o una molécula indicadora o se puede usar como un ligando de captura para aislar y/o detectar selectivamente los linfocitos T V δ 1 en una muestra. Los anticuerpos etiquetados se utilizan en muchos métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, inmunohistoquímica y ELISA.

- 25 La etiqueta detectable o molécula indicadora puede ser un radioisótopo, tal como ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S o ^{125}I ; una porción fluorescente o quimioluminiscente tal como isotiocianato de fluoresceína, o rodamina; o una enzima tal como fosfatasa alcalina, β -galactosidasa, peroxidasa de rábano picante o luciferasa. Luego, las etiquetas fluorescentes aplicadas a los
- 30

anticuerpos de la invención pueden usarse en métodos de clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS).

Por lo tanto, en diversas formas de realización, la invención incluye métodos *in vivo* para modular los linfocitos T $\gamma\delta$, métodos de fijación a los linfocitos T $\gamma\delta$, métodos de direccionamiento a los linfocitos T $\gamma\delta$, métodos para activar los linfocitos T $\gamma\delta$, métodos para proliferar los linfocitos T $\gamma\delta$, métodos para expandir los linfocitos T $\gamma\delta$, métodos para detectar los linfocitos T $\gamma\delta$, métodos para causar la desgranulación de los linfocitos T $\gamma\delta$, métodos para causar la actividad de inactivación mediada por linfocitos T $\gamma\delta$ y métodos para seleccionar anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos, en donde los métodos comprenden la etapa de administrar un anticuerpo anti- $\gamma\delta$ o fragmento de fijación al antígeno de este a un sujeto como se describe en la presente.

Medicamentos para modular linfocitos T gamma delta

Los anticuerpos anti-V δ 1 o fragmentos de fijación al antígeno de estos como se describen en la presente pueden usarse para modular o son útiles en la modulación de los linfocitos T de cadena variable delta 1 (V δ 1) en un paciente *in situ* (es decir, *in vivo*). Los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos pueden estar comprendidos en medicamentos para tales propósitos.

La modulación de los linfocitos T V δ 1 puede incluir:

- expansión de los linfocitos T V δ 1, por ejemplo, al aumentar selectivamente la cantidad de linfocitos T V δ 1 o la promoción de supervivencia de linfocitos T V δ 1;
- estimulación de los linfocitos T V δ 1, por ejemplo, al aumentar la potencia de linfocitos T V δ 1, es decir, al aumentar la inactivación de células diana;
- prevención del agotamiento de linfocitos T V δ 1, por ejemplo, al aumentar la persistencia de los linfocitos T V δ 1;
- desgranulación de linfocitos T V δ 1;
- aumento de la expresión de NCR;
- aumento de la expresión de 4-1BB
- inmunomodulación de los linfocitos T V δ 1, por ejemplo, mediante la regulación descendente de la expresión en la superficie celular de TCR V δ 1, es decir, al causar la internalización de TCR V δ 1 o la expresión reducida de la proteína de TCR V δ 1, o al bloquear la fijación de TCR V δ 1; y/o

- regulación descendente de un complejo TCR/CD3.

A diferencia de los anticuerpos anti-V δ 1 del estado de la técnica que se enfocan en la disminución de linfocitos T V δ 1, los anticuerpos de la presente invención son útiles para la activación de linfocitos T V δ 1 a través del dominio de fijación a TRDV1. A pesar de que pueden causar regulación descendente de los TCR en linfocitos T a los que se fijan, no ocasionan disminución de linfocitos T V δ 1, sino que estimulan los linfocitos T y por lo tanto pueden ser útiles en entornos terapéuticos que podrían beneficiarse de la activación de este compartimento de linfocitos T. La activación de los linfocitos T V δ 1 es evidente a través de la regulación descendente de TCR, regulación descendente de CD3, cambios en los marcadores de activación tales como CD25 y Ki67, y marcador de desgranulación CD107a. A su vez, la activación de los linfocitos T V δ 1 activa la liberación de citocinas inflamatorias tales como INF γ y TNF α para promover la licencia inmunitaria.

Medicamentos que modulan los marcadores de células inmunitarias en células V δ 1+

El anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este puede modular los marcadores de células inmunitarias en células V δ 1+ después de administrarlo a un paciente.

Un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este descrito en la presente también se puede evaluar para determinar su idoneidad para su uso terapéutico al medir la modulación de linfocitos T $\gamma\delta$. Por ejemplo, al medir un cambio en los niveles de CD25 o CD69 o CD107a presentes en un linfocito V δ 1+ o células en un sistema modelo. Tales marcadores se usan a menudo como marcadores de modulación (por ejemplo, proliferación o desgranulación) de linfocitos y se pueden medir después de aplicar un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se describe en la presente, por ejemplo, mediante citometría de flujo. Sorprendentemente, durante tales evaluaciones (por ejemplo, ver, por ejemplo, los Ejemplos 7, 17, 18), se observó que los anticuerpos descritos en la presente confirieron niveles considerablemente mayores de CD25 o CD69 o CD107a en los linfocitos T V δ 1+ diana. Opcionalmente, el cambio de fenotipo de una célula V δ 1+ o una población de estas células evaluado en el sistema modelo puede luego compararse con el cambio de fenotipo cuando se aplica un anticuerpo comparativo alternativo (por ejemplo OKT-3, TS8,2, etc.) a dichos linfocitos T $\gamma\delta$ equivalentes.

Por lo tanto, en un aspecto de la invención, se proporciona un método de evaluar un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija a la cadena V δ 1 de un TCR

γδ para uso terapéutico que comprende administrar el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este a una población celular que comprende células Vδ1+ y determinar el efecto sobre el nivel de CD25 y/o CD69 y/o CD107a sobre la superficie de las células Vδ1+. El efecto sobre el nivel de CD25, CD69 y/o CD107a se puede determinar/medir durante un período de tiempo. Se entenderá que el efecto se puede medir en comparación con el nivel de CD25 y/o CD69 y/o CD107a sobre la superficie de la célula Vδ1+ cuando dicho anticuerpo no se aplica a dicha célula durante el mismo período de tiempo. En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un método para seleccionar o caracterizar o comparar los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos como se describen en la presente que se fijan a la cadena Vδ1 de un TCR γδ al agregar dichos anticuerpos a una población de células que comprende células Vδ1+ y luego medir el nivel (o la expresión) de CD25 o CD69 o CD107a sobre la superficie de dichas células Vδ1+.

Medicamentos que modulan las propiedades de crecimiento o las cantidades de células Vδ1+

El anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este puede modular las propiedades de crecimiento de células Vδ1+ después de administrarlo a un paciente. Por ejemplo, el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este puede expandir células Vδ1+.

Un enfoque alternativo para medir la proliferación de T γδ puede incluir medir el cambio en la cantidad relativa de células Vδ1+ a lo largo del tiempo cuando se aplica un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se describe en la presente a sistemas modelo que contienen dichas células. Sorprendentemente, durante tales evaluaciones se observó que los anticuerpos como se describen en la presente fueron capaces de aumentar de manera mensurable la cantidad de dichos linfocitos T Vδ1+ (por ejemplo, ver, por ejemplo, los Ejemplos 10, 17 y 18). Opcionalmente, este cambio en la cantidad luego se puede comparar al cambio en la cantidad observada cuando se aplica un anticuerpo comparativo alternativo (por ejemplo, anti-OKT3) a dichos sistemas modelo.

Por lo tanto, en otro aspecto de la invención, se proporciona un método para evaluar un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija a la cadena Vδ1 de un TCR γδ que comprende administrar el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este a una población celular que comprende células Vδ1+ y determinar el efecto sobre la cantidad de células Vδ1+ en la población. El efecto sobre la cantidad de células se puede

determinar/medir durante un período de tiempo. Se entenderá que el efecto se puede medir en comparación con el efecto sobre las cantidades de células observadas cuando dicho anticuerpo no se aplica a la población celular durante el mismo período de tiempo. En un aspecto adicional de la invención se proporciona un método para seleccionar o caracterizar o

5 comparar anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos como se describen en la presente que se fijan a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ al aplicar dichos anticuerpos a una población celular que comprende células V δ 1 y luego medir la cantidad de dichas células a lo largo del tiempo.

Medicamento que modulan la capacidad proliferativa y la cantidad de células V δ 1+

10 Un anticuerpo terapéutico ideal o fragmento de fijación al antígeno de este como se describe en la presente que se fija a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ puede ser uno que es capaz de mejorar la proliferación de células V δ 1+ *in vivo*. Luego, tales anticuerpos pueden emplearse como medicamentos diseñados para aumentar específicamente la cantidad de células V δ 1+ en un sujeto o paciente. Por ejemplo:

15 Cáncer:

Se han informado aumentos relativos en las cantidades de células V δ 1+ como un indicador de pronóstico positivo asociado con resultados mejorados para muchos tipos de cáncer (por ejemplo, ver Gentles *et al.* (2015) *Nature Immunology* 21: 938-945; Wu *et al.* (2019) *Sci. Trans. Med.* 11(513): eaax9364; Catellani *et al.* (2007) *Blood* 109(5): 2078-2085). En una

20 forma de realización, se presenta en la presente un medicamento capaz de aumentar la cantidad relativa o absoluta de células V δ 1+ *in situ* en un paciente con cáncer.

Infecciones patógenas/parasitarias/virales:

Se observa el enriquecimiento de células V δ 1+ durante la defensa del huésped contra las numerosas infecciones patógenas/parasitarias/virales. Se puede encontrar una reseña

25 general reciente en Zhao *et al.* (2018) *Immunol. Res.* 2018:5081634. Además, las cantidades aumentadas de V δ 1+ también se consideran una protección contra diversas infecciones virales de ADN y ARN. Por ejemplo, las cantidades aumentadas también se consideran protectoras durante las infecciones de CMV asociadas con trasplantes alogénicos (ver van Dorp *et al.* (2011) *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 17(2): S217). Además, las

30 cantidades de células V δ + aumentan en pacientes con infección de coronavirus (Poccia *et al.* (2006) *J. Infect. Dis.* 193(9): 1244-1249).

En otra forma de realización, se presenta en la presente un medicamento capaz de aumentar las cantidades relativas o absolutas de células V δ 1+ en un sujeto o paciente que tiene una infección patógena.

Trasplante de células madre:

- 5 Las mayores cantidades de células V δ 1+ también se han asociado con menos recidiva de la enfermedad, menos infecciones virales, mayor supervivencia general y libre de la enfermedad y resultados clínicos favorables en general durante el trasplante de células madre hematopoyéticas (por ejemplo, ver Aruda *et al.* (2019) Blood 3(21): 3436–3448 y ver Godder *et al.* (2007) Bone Marrow Transplantation 39: 751-757). Por lo tanto, otra forma de realización
- 10 presentada en la presente es un medicamento capaz de aumentar las cantidades relativas o absolutas de células V δ 1+ en un sujeto como parte de un régimen de tratamiento que respalda un trasplante de células madre.

En consecuencia, es altamente deseable un medicamento capaz de aumentar preferencial o específicamente las cantidades de células V δ 1+ *in-situ*.

15 **Medicamentos que mantienen o inducen o aumentan la secreción de citocinas de células V δ 1+**

- Las citocinas son un gran grupo de proteínas, péptidos o glicoproteínas segregadas por células específicas del sistema inmunitario. Son una categoría de moléculas de señalización que median y regulan la inmunidad, inflamación y hematopoyesis. Se ha implicado una
- 20 cantidad de citocinas en mejorar los signos y síntomas de la enfermedad a través de modulación directa o indirecta del microentorno tumoral y celular, tejido autoinmunitario y microentorno asociado, o tejido infectado viralmente o entorno celular. Las citocinas proinflamatorias de ejemplo incluyen factor de necrosis tumoral-alfa (TNF α) e interferón-gamma (IFN γ).

- 25 Sin embargo, muchas de estas citocinas exhiben toxicidad desfavorable cuando se dosifica de manera sistémica. Por ejemplo, si bien TNF α puede inducir la necrosis hemorrágica de los tumores trasplantados, y se informó que produce efectos antitumorales sinérgicos cuando se combina con otros fármacos quimioterapéuticos, diversos ensayos clínicos con TNF α humano recombinante (rhTNF α) sistémico resaltaron significativos efectos secundarios que limitan la
- 30 dosis, incluso hipotensión, escalofríos, flebitis, trombocitopenia, leucopenia y hepatotoxicidad, fiebre, fatiga, náuseas/vómitos, malestar general y debilidad, cefalea, opresión en el pecho,

dolor en la espalda baja, diarrea y disnea.

El uso de IFN γ recombinante también enfrenta desafíos similares de toxicidad sistémica. Por ejemplo, si bien IFN γ puede producir, en un entorno de cáncer, efectos pleiotrópicos favorables, incluso regulación ascendente de MHC clase I y II para estimular la actividad antitumoral, aumento de la infiltración de linfocitos T, generación de efectos antiangiogénesis, inducción de secreción de quimiocinas/citocinas y generación de efectos directos en contra de la proliferación de células cancerosas, también se observan efectos secundarios adversos. Estos incluyen fiebre, cefalea, escalofríos, fatiga, diarrea, náuseas, vómitos, anorexia, aumentos transitorios en la transaminasa hepática y disminuciones transitorias en recuentos de granulocitos y leucocitos.

Se puede encontrar una reseña reciente del potencial y las limitaciones de TNF α e IFN γ recombinantes sistémicos en Shen *et al.* (2018) Cell Prolif. 51(4): e12441.

Por lo tanto, se necesita una producción de tales citocinas más específica de tejido o célula, más controlada *in situ* y más localizada. Por ejemplo, se propone una expresión o inducción más controlada de citocinas proinflamatorias como un enfoque mediante el cual los tumores “fríos” se pueden volver “calientes”. Los tumores calientes también se denominan a veces “con inflamación de linfocitos T” debido a que también se observa un aumento de la cantidad o densidad de linfocitos T CD45+. Ver Bonaventura *et al.* (2019) Front. Immunol. 10: 168 para obtener una reseña reciente.

Por tales razones, un anticuerpo terapéutico ideal o fragmento de fijación al antígeno de este como se describe en la presente que se fija a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ puede ser uno que pueda mantener o mejorar o inducir la secreción de citocinas en células V δ 1+ *in vivo*. Luego, tales anticuerpos pueden emplearse como medicamentos diseñados para inducir o aumentar específicamente las citocinas en un sujeto o paciente y de una manera más localizada y menos sistémica que se correlaciona de mejor manera con la distribución de células V δ 1+ en dicho sujeto o paciente.

Notablemente, cuando los anticuerpos descritos en la presente que se fijan a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ se aplican a células V δ 1+, se observa un nivel significativamente mayor de citocinas segregadas. Más específicamente, y como un ejemplo no limitativo, se observa un nivel significativamente más alto de TNF α e IFN γ . Ver, por ejemplo, el Ejemplo 15.

Por lo tanto, en otro aspecto de la invención, se proporciona un método para evaluar un

anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ que comprende administrar el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este a una población celular que comprende células V δ 1+ y determinar la cantidad de al menos una citocina producida por la población celular. La cantidad de citocina producida se puede

5 determinar/medir durante un período de tiempo y opcionalmente se compara con la cantidad observada cuando dicho anticuerpo no se aplica a la población celular durante el mismo período de tiempo. En una forma de realización, el nivel observado de citocina producido cuando el anticuerpo se administra a la población celular es más de alrededor de 10 %, más de alrededor de 20 %, más de alrededor de 30 %, más de alrededor de 50 %, más de

10 alrededor de 100 %, más de alrededor de 150 %, más de alrededor de 200 %, más de alrededor de 250 %, más de alrededor de 300 %, más de alrededor de 350 %, más de alrededor de 400 %, más de alrededor de 450 %, más de alrededor de 500 %, más de alrededor de 1000 %, con respecto al nivel de citocina producido cuando no se aplica el anticuerpo. En un aspecto adicional de la invención, la citocina es una citocina proinflamatoria.

15 En un aspecto adicional de la invención, la citocina es una citocina TNF- α . En un aspecto adicional de la invención, es citocina IFN- γ .

En un aspecto adicional de la invención se proporciona un método para seleccionar o caracterizar o comparar anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos como se describen en la presente que se fijan a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ al aplicar dichos

20 anticuerpos a una población celular que comprende células V δ 1 y luego al medir el nivel de al menos una citocina generada. En un aspecto adicional de la invención, la citocina medida es una citocina TNF- α y/o citocina IFN- γ .

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un método para evaluar un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ al aplicar

25 dicho anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este a una población celular que comprende células V δ 1+ y medir el efecto del anticuerpo sobre la modulación de un tumor más frío o frío para que se convierta en un tumor más caliente o caliente al determinar la cantidad de citocinas proinflamatorias producidas y/o la cantidad o densidad de linfocitos T CD45+ en el tumor o microentorno tumoral.

30 **Medicamentos que mantienen o inducen o aumentan la actividad de granzima B de las células V δ 1+**

La granzima B es una serina proteasa que se encuentran habitualmente en los gránulos de las células *natural killer* (células NK) y los linfocitos T citotóxicos. Estas células la segregan junto con la perforina de proteína formadora de poros para mediar la apoptosis en las células diana, tales como células enfermas.

- 5 Cuando las células V δ 1+ se incuban en cocultivos con células enfermas diana (tales como células cancerosas) en sistemas modelo, los niveles y la actividad de granzima B pueden medirse en las células enfermas diana antes de la lisis. Notablemente, cuando un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se describe en la presente que se fija a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ se aplica luego a tales cocultivos de células V δ 1+ y células
- 10 cancerosas en tales sistemas modelo, se observan mayores niveles y actividad de granzima B en las células cancerosas enfermas antes de la muerte celular (ver, por ejemplo, el Ejemplo 16).

- Por lo tanto, en otro aspecto de la invención, se proporciona un método para evaluar un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ que comprende administrar el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este a un
- 15 cocultivo que comprende células V δ 1+ y células enfermas (tales como células cancerosas) y medir el efecto sobre la cantidad de granzima B producida por las células enfermas en el cocultivo. La cantidad de citocina producida se puede determinar/medir durante un período de tiempo y se compara opcionalmente con la cantidad observada cuando dicho anticuerpo no se
- 20 aplica a dicho cocultivo durante el mismo período de tiempo. En una forma de realización, el nivel de granzima B medido cuando dicho anticuerpo se aplica a dicho cocultivo es más de alrededor de 10 %, más de alrededor de 20 %, más de alrededor de 30 %, más de alrededor de 40 %, más de alrededor de 50 %, más de alrededor de 70 %, más de alrededor de 80 %, más de alrededor de 90 %, más de alrededor de 100 %, más de alrededor de 200 %, con
- 25 respecto al nivel de granzima B observado cuando no se aplica dicho anticuerpo.

- En un aspecto adicional de la invención se proporciona un método para seleccionar o caracterizar o comparar anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos como se describen en la presente que se fijan a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ al aplicar dichos anticuerpos a un cocultivo que comprende células V δ 1+ y células enfermas y luego medir la
- 30 cantidad o actividad de granzima B en la célula enferma.

Medicamentos que regulan de manera ascendente la expresión de 4-1BB (CD137)

específicamente en linfocitos T V δ 1⁺

4–1BB (CD137), un miembro de la superfamilia de TNFR, es una molécula coestimuladora de linfocitos T inducible. Con pocas excepciones, la expresión de 4–1BB es dependiente de la activación. Habitualmente, 4–1BB es menos detectable en linfocitos T detectable en reposo

5 convencionales ($\alpha\beta$) o líneas de linfocitos T asociadas. Sin embargo, 4–1BB se regula de manera ascendente de manera estable cuando los linfocitos T convencionales se activan mediante una variedad de agonistas, tales como anti-CD3 fijados a la placa, concanavalina A, fitohemaglutinina, interleucina (IL)-2, IL-4 y CD28, así como también forbol mirístico acetato e ionomicina, ya sea aislada o en combinación con APC. Sin embargo, mientras que se conoce

10 que dichos agentes pueden universalmente regular de manera ascendente los linfocitos T, continúa existiendo una necesidad de un enfoque menos brusco, más dirigido para evitar la sobreestimulación conferida a menudo por medicamentos anti-CD3 y similares. Además, y aunque el papel y la función de 4–1BB en linfocitos T $\alpha\beta$ ‘convencionales’ se han estudiado, su función en linfocitos T $\gamma\delta$ se ha explorado menos. Sin embargo, en al menos un informe,

15 Lee et al 2013 (<https://doi.org/10.1002/eji.201242842>) demostró que mientras que 4–1BB no se expresa normalmente en linfocitos T $\gamma\delta$ humanos de sangre periférica humana en reposo (subtipo no completamente definido, probablemente V γ 9V δ 2 predominante), la regulación ascendente 4-1BB se puede lograr en presencia de citocina IPP/IL-2 durante 7 días. Además, los autores demostraron que los linfocitos T $\gamma\delta$ resultantes son más eficaces para prevenir

20 infección por *Listeria* en un modelo de ratón adoptivo. Más recientemente, Park and Lee 2021 (<https://doi.org/10.1038/s12276-021-00576-0>) coincidieron con estas observaciones, al menos para tipos de células dominantes en sangre periférica, en donde declaran que se conoce que 4-1BB mejora los linfocitos T V γ 9V δ 2 (mientras que también conceden que la función y el mecanismo aún no están claros). Por lo tanto, existe una necesidad de medicamentos que

25 mejoren específicamente la expresión de 4-1BB en linfocitos T $\gamma\delta$ T para tratar una enfermedad o un trastorno para mejorar al menos un signo o síntoma de una enfermedad o trastorno. Este es el caso particular para escenarios *in situ* donde, y como se analiza en otra parte en la presente, dichas células incluyen linfocitos T V δ 1⁺ que residen en el tejido, a menudo considerados ‘en descanso’. Por lo tanto, en una forma de realización adicional, se

30 presenta en la presente una clase de anticuerpos anti-V δ 1 de alta afinidad humanos que puedan aumentar significativamente los niveles de 4-1BB en linfocitos T V δ 1⁺ (ver Figura 64).

Y en aun una forma de realización adicional, en la presente se presentan una clase de anticuerpos anti-V δ 1 humanos de alta afinidad que pueden aumentar significativamente los niveles de 4-1BB en linfocitos T V δ 1+ derivados de tejido. Un aumento significativo podría ser, por ejemplo, $p < 0,05$ mediante ANOVA de un factor ordinario con prueba posterior de Sidak.

5 **Medicamentos que regulan de manera ascendente la expresión de receptores de citotoxicidad naturales (NCR) en linfocitos T V δ 1⁺**

Como se analiza en otra parte en la presente, un medicamento deseado puede ser uno que se dirige específicamente a y activa un subconjunto más deseado de linfocitos T; específicamente, uno que se dirige y activa los linfocitos T V δ 1+. Dada la capacidad de dichos
 10 linfocitos T V δ 1+ para reconocer y distinguir firmas 'propias' estresadas o desreguladas (tales como las firmas encontradas en células infectadas o células cancerosas) con la ayuda de un mecanismo de detección que incluye el acoplamiento a través de receptores de citotoxicidad natural (NCR), entonces un medicamento ideal sería uno que pueda regular de manera
 15 ascendente los NCR en linfocitos T V δ 1+. En los estudios presentados en la presente (ver Figura 65), todos los anticuerpos anti-V δ 1+ con maduración de afinidad estudiados confirieron regulación ascendente de NCR sobre los linfocitos T V δ 1+ en modelos de cultivo de PBMC extendidos.

Medicamentos que expanden las poblaciones de células V δ 1+ policlonales

Un medicamento de anticuerpo ideal también puede ser uno diseñado para garantizar que las
 20 células V δ 1+ en expansión no se enfoquen demasiado en términos de clonación en el nivel de la secuencia de CDR3 hipervariable. Por lo tanto, se puede diseñar un medicamento de anticuerpo ideal para evitar inducir la proliferación de células V δ 1+ mediante la fijación a parátomos de secuencia de CDR3 δ 1+ específicos o "privados". En su lugar, el anticuerpo puede fijarse a través de secuencias de la línea germinal conservadas presentes en todos los
 25 receptores de linfocitos T V δ 1+ y de manera independiente de la cadena gamma, en lugar de fijarse a secuencias que se presentan solo en un subconjunto de células V δ 1+.

Por lo tanto, un medicamento de anticuerpo ideal puede estimular la expansión de células V δ 1+ para generar una pluralidad de células V δ 1+ que contienen una mezcla de secuencias de CDR3. Esto a su vez daría como resultado una población policlonal heterogénea
 30 expandida *in vivo* de células V δ 1+ que presentan diferentes secuencias de CDR3 en las cadenas variables delta 1. Notablemente, durante el análisis de las poblaciones de células

V δ 1+ expandidas generadas con un método para agregar un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se describe en la presente a una población inicial de células inmunitarias que contienen células V δ 1+, se observa policlonalidad extensa mediante metodologías a base de ARNseq diseñadas para secuenciar a través de las regiones hipervariables de CDR3 del ARN extraído (ver, por ejemplo, el Ejemplo 10).

En consecuencia, en un aspecto se proporciona un método para evaluar un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ que comprende administrar el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este a una población celular que comprende células V δ 1+ y determinar la policlonalidad de las células V δ 1+ expandidas. Es conveniente que un medicamento de anticuerpo genere una población policlonal expandida que contiene una pluralidad de secuencias de CDR3 V δ 1+. La policlonalidad se puede determinar con métodos conocidos en la técnica, tales como enfoques de secuenciación de ácido nucleico capaces de analizar el contenido de CDR3 hipervariable de cadena V δ 1 de dichas células V δ 1+.

Medicamentos que expanden las células V δ 1+ policlonales durante períodos extendidos de tiempo

Un medicamento de anticuerpo ideal puede ser capaz de mejorar o promover o estimular la proliferación de células V δ 1+ primarias sin agotar tales células *in vivo*. Por ejemplo, y a modo de comparación, los medicamentos anti-CD3, tales como OKT3 (por ejemplo, muronomab), si bien son capaces de expandir los linfocitos T CD3 positivos, también pueden agotar o inducir la anergia. Para evaluar la capacidad de los anticuerpos descritos en la presente y que se fijan a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ para impulsar la división celular continua de las células V δ 1+ viables, se realizaron estudios de proliferación a mayor plazo. Notablemente, estos estudios revelaron que los anticuerpos descritos en la presente y que se fijan a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ son capaces de impulsar la división/proliferación celular de células V δ 1+ viables y aún funcionalmente citotóxicas durante más de 40 días (ver, por ejemplo, el Ejemplo 10).

En una forma de realización, se proporciona un método para evaluar un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ que comprende aplicar el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este a una población celular y monitorear el período de tiempo durante el cual se produce la división de las células V δ 1+. Idealmente, el anticuerpo es capaz de estimular la división de células V δ 1+ durante un

período de 5 a 60 días, tal como al menos de 7 a 45 días, de 7 a 21 días o de 7 a 18 días.

En una forma de realización adicional, se proporciona un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se describe en la presente que se fija a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ y que, cuando se administra a un paciente, puede estimular la división de células V δ 1+ para
 5 aumentar la cantidad al menos 2 veces, al menos 5 veces, al menos 10 veces, al menos 25 veces, al menos 50 veces, al menos 60 veces, al menos 70 veces, al menos 80 veces, al menos 90 veces, al menos 100 veces, al menos 200 veces, al menos 300 veces, al menos 400 veces, al menos 500 veces, 600 veces o al menos 1.000 veces.

En un aspecto adicional de la invención se proporciona un método para seleccionar o
 10 caracterizar o comparar anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos como se describen en la presente que se fijan a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ al aplicar dichos anticuerpos a células V δ 1+ o una población de células mixtas que contiene células V δ 1 y luego medir la cantidad de células V δ 1+ a lo largo del tiempo.

15 Medicamentos que modulan las células inmunitarias no V δ 1+ a través del direccionamiento a células inmunitarias V δ 1+

Un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se describe en la presente también se puede evaluar al medir la modulación mediada por células V δ 1+ de otras células inmunitarias. Por ejemplo, un cambio observado en una “fracción” de linfocito T no $\gamma\delta$ se puede medir después de la aplicación de un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de
 20 este como se describe en la presente a un sistema modelo que comprende una población mixta de células inmunitarias, tal como una que comprende células $\alpha\beta$ de tejido humano y linfocitos T $\gamma\delta$. Además, el efecto de tipos de célula no $\gamma\delta$ en dichos modelos se puede medir mediante citometría de flujo. Por ejemplo, al medir el cambio relativo en la cantidad de linfocitos T $\alpha\beta$ CD8+ tras la adición de un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de
 25 este como se describe en la presente a cultivos mixtos que comprenden linfocitos T $\gamma\delta$ y linfocitos T no $\gamma\delta$. Opcionalmente, el cambio observado en la cantidad o fenotipo de una población de linfocitos CD8+ linfocitos T no $\gamma\delta$ luego se puede comparar al cambio en la cantidad cuando se aplica un anticuerpo comparativo alternativo (por ejemplo, OKT-3) a dicha población mixta.

30 Por lo tanto, en otro aspecto de la invención, se proporciona un método para evaluar un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija a la cadena V δ 1 de un TCR

$\gamma\delta$ que comprende administrar el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este a una población mixta de células inmunitarias o tejidos que comprenden células V δ 1+ y células inmunitarias V δ 1 negativas y medir el efecto sobre las células inmunitarias V δ 1 negativas. El efecto se puede determinar/medir durante un período de tiempo y comparar opcionalmente con el efecto observado en células V δ 1 negativas cuando no se aplica dicho anticuerpo durante el mismo período de tiempo. El efecto se puede medir como un cambio en la cantidad de células inmunitarias V δ 1 negativas. Por ejemplo, el anticuerpo puede aumentar la cantidad de células inmunitarias V δ 1 negativas en más de alrededor de 10 %, más de alrededor de 20 %, más de alrededor de 30 %, más de alrededor de 40 %, más de alrededor de 50 %, más de alrededor de 70 %, más de alrededor de 80 %, más de alrededor de 90 %, más de alrededor de 100 %, más de alrededor de 500 %, con respecto a los niveles observados cuando no se aplica dicho anticuerpo.

En un aspecto adicional de la invención, la célula V δ 1-negativa modulada es una célula CD45+. En un aspecto adicional de la invención, la célula modulada es un linfocito T $\alpha\beta$. En un aspecto adicional de la invención, la célula $\alpha\beta$ + es un linfocito CD8+. En un aspecto adicional de la invención, el linfocito T $\alpha\beta$ modulado, o la población de este, exhibe evidencia de división celular mejorada. En un aspecto adicional de la invención se proporciona un método para seleccionar o caracterizar o comparar anticuerpos o fragmento de fijación al antígeno de estos como se describen en la presente que se fijan a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ al administrar dichos anticuerpos a una población de células inmunitarias mixtas que comprenden células V δ 1+ y células inmunitarias V δ 1 negativas y luego medir un efecto conferido sobre la población de células V δ 1 negativas por las células V δ 1+ moduladas por dichos anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos.

Opcionalmente, y durante la “modulación del sistema inmunitario mediada por células V δ 1+” como se confiere mediante un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se describe en la presente, también se observa un aumento concomitante en la cantidad de células V δ 1+. Sin limitarse a esta teoría, es posible que dicho aumento en la cantidad de células V δ 1+ pueda ser causal de impulsar la expansión concomitante de las células inmunitarias V δ 1 negativas copresentes, tales como linfocitos T $\alpha\beta$. Una hipótesis alternativa puede ser que las secreciones de citocinas inducidas por anticuerpos de los linfocitos T V δ 1+ estimulan la expansión de células inmunitarias V δ 1 negativas.

En un aspecto adicional de la invención, el aumento observado en la población de linfocitos $\alpha\beta^+$ CD8 $^+$ se compara con un anticuerpo comparativo tal como el anticuerpo OKT3 o el anticuerpo anti-V δ 1 alternativo. En un aspecto adicional de la invención se proporciona un método para seleccionar o caracterizar o comparar anticuerpos o fragmentos de fijación al anticuerpo de estos como se describen en la presente que se fijan a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ al aplicar dichos anticuerpos a una población de células inmunitarias mixtas que comprenden linfocitos T V δ 1 $^+$ y linfocitos T $\alpha\beta$ y luego medir las cantidades de linfocitos T $\alpha\beta^+$ CD8 $^+$ a lo largo del tiempo.

Medicamentos que modulan los linfocitos que infiltran tumores (TIL)

Un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se describe en la presente también se puede evaluar al medir el efecto conferido sobre las poblaciones que infiltran tumores (TIL) en sistemas modelo. Sorprendentemente (ver, por ejemplo, el Ejemplo 18), durante tales evaluaciones, los anticuerpos como se describen en la presente modularon de manera mensurable las poblaciones de TIL en tumores humanos. Por ejemplo, un cambio en la cantidad o el fenotipo de población de TIL de linfocitos $\gamma\delta^+$ o la población de TIL de linfocitos no $\gamma\delta$ se mide después de la aplicación de un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se describe en la presente a un tumor humano tal como un carcinoma de células renales humano. Opcionalmente, el cambio observado en la cantidad o el fenotipo de una población de TIL de linfocitos $\gamma\delta^+$ o una población de TIL de linfocitos no $\gamma\delta$ luego se puede comparar con el cambio observado cuando se aplica un anticuerpo comparativo alternativo (por ejemplo, OKT-3) a dicho sistema modelo.

Por lo tanto, en otro aspecto de la invención se proporciona un método para evaluar un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ que comprende administrar el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este a los TIL ubicados en, o derivados de, un tumor humano y determinar el efecto sobre la cantidad de TIL. El efecto se puede determinar/medir durante un período de tiempo y comparar opcionalmente con la cantidad de TIL observada cuando dicho anticuerpo no se aplica durante el mismo período de tiempo. El efecto puede ser un aumento en la cantidad de TIL. Por ejemplo, el anticuerpo puede aumentar la cantidad de TIL en más de alrededor de 10 %, más de alrededor de 20 %, más de alrededor de 30 %, más de alrededor de 40 %, más de alrededor de 50 %, más de alrededor de 70 %, más de alrededor de 80 %, más de alrededor

de 90 %, más de alrededor de 100 % con respecto a las cantidades de TIL observadas cuando no se aplica dicho anticuerpo. En un aspecto adicional, los TIL en los que la cantidad observada son células de TIL de linfocitos $\gamma\delta$ + y/o células de TIL de linfocitos no $\gamma\delta$.

En un aspecto adicional de la invención se proporciona un método para seleccionar o caracterizar o comparar anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos como se describen en la presente que se fijan a la cadena V δ 1 de anticuerpos contra células TCR $\gamma\delta$ al aplicar dichos anticuerpos al TIL o los TIL ubicados en o derivados de un tumor humano y luego medir el cambio en la cantidad de TIL o células de TIL a lo largo del tiempo.

Medicamentos que modulan la citotoxicidad de V δ 1+ humana

- 10 Un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se describe en la presente también se puede evaluar al medir el efecto conferido sobre la citotoxicidad mediada por células V δ 1+. Sorprendentemente, durante tales evaluaciones de anticuerpos como se describen en la presente (por ejemplo, ver Ejemplos 19 y 27) se observó citotoxicidad mediada por células V δ 1+ mejorada de manera mensurable. Por ejemplo, se observa una
- 15 reducción en la cantidad de células cancerosas o un aumento en la cantidad de células cancerosas inactivadas después de la aplicación de un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este a un sistema modelo que comprende un cultivo mixto que comprende células V δ 1+ y dichas células cancerosas. Opcionalmente, la reducción en la cantidad de células cancerosas o el aumento en la cantidad de células cancerosas inactivadas luego se puede
- 20 comparar con el resultado cuando se aplica un anticuerpo comparativo alternativo (por ejemplo, OKT-3) a dichos sistemas modelos.

- Por lo tanto, en otro aspecto de la invención, se proporciona un método para evaluar un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ que comprende aplicar el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este a una
- 25 población mixta de células que comprenden células V δ 1+ y células cancerosas y medir la citotoxicidad de las células V δ 1+ hacia las células cancerosas. La citotoxicidad se puede medir mediante un aumento en la cantidad de células cancerosas muertas durante un período de tiempo y opcionalmente en comparación con la cantidad de células cancerosas muertas observada cuando no se aplica dicho anticuerpo a la población mixta de células durante el
- 30 mismo período de tiempo. Por ejemplo, el aumento observado en las células muertas cuando se aplica dicho anticuerpo puede ser más de alrededor de 10 %, más de alrededor de 20 %,

más de alrededor de 30 %, más de alrededor de 40 %, más de alrededor de 50 %, más de alrededor de 70 %, más de alrededor de 80 %, más de alrededor de 90 %, más de alrededor de 100 %, más de alrededor de 200 %, más de alrededor de 500 %, con respecto a la cantidad de células muertas observadas cuando no se aplica dicho anticuerpo.

- 5 En un aspecto adicional de la invención se proporciona un método para seleccionar o caracterizar o comparar anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos como se describen en la presente que se fijan a la cadena V δ 1 de células TCR $\gamma\delta$ al agregar dichos anticuerpos a dicha población de células inmunitarias mixtas que comprenden células V δ 1+ humanas y células cancerosas y luego medir un aumento en las células cancerosas muertas
- 10 en el tiempo.

Medicamentos que modulan las relaciones de células diana V δ 1+ con respecto a células efectoras (relaciones T:E)

- Un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se describe en la presente también puede evaluarse al medir cómo dichos anticuerpos mejoran la citotoxicidad de células
- 15 cancerosas mediadas por V δ 1+ al determinar la relación de células diana con respecto a células efectoras en donde 50 % de las células diana (EC50) están inactivadas en un sistema modelo para evaluar dichos anticuerpos como medicamentos potenciales. Por ejemplo, los cultivos mixtos que comprenden células cancerosas diana con células efectoras V δ 1+ humanas. Sorprendentemente, durante tales evaluaciones (por ejemplo, ver el Ejemplo 19),
- 20 los anticuerpos como se describen en la presente modifican favorablemente la relación T:E de EC50 en sistemas modelo. Tales modificaciones pueden medirse como cantidades de células V δ 1+ requeridas para observar 50 % de inactivación de células cancerosas durante un tiempo establecido. Esto también puede informarse como cambio o como mejoras en el plegamiento o como mejoras en porcentaje en la citotoxicidad hacia dichas células cancerosas.
- 25 Opcionalmente, la relación T:E conferida por los anticuerpos de esta invención luego se pueden comparar con las relaciones T:E cuando se aplica un anticuerpo comparativo alternativo (por ejemplo, OKT-3) a dichos sistemas modelo. En algunos escenarios, los anticuerpos multiespecíficos de la invención presentan oportunidades para la citotoxicidad de células cancerosas mejorada incluso en las relaciones E:T más bajas, en comparación con los
- 30 anticuerpos monoespecíficos.

Por lo tanto, en otro aspecto de la invención, se proporciona un método para evaluar un

anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ que comprende aplicar el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este a una población mixta de células que comprenden células V δ 1+ humanas y células cancerosas y medir la cantidad de células V δ 1+ requeridas para inactivar 50 % de las células cancerosas.

5 Esto se puede medir con respecto a la cantidad de células V δ 1+ requeridas para inactivar 50 % de las células cancerosas sin la aplicación de dicho anticuerpo, opcionalmente durante el mismo período de tiempo. Por ejemplo, la reducción en la cantidad de células V δ 1+ requeridas para inactivar 50 % de las células cancerosas cuando se aplica dicho anticuerpo puede ser mayor de alrededor de 10 %, mayor de alrededor de 20 %, mayor de alrededor de 30 %, mayor de alrededor de 40 %, mayor de alrededor de 50 %, mayor de alrededor de 70 %, mayor de alrededor de 80 %, mayor de alrededor de 90 %, mayor de alrededor de 100 %, mayor de alrededor de 200 %, mayor de alrededor de 500 %, con respecto a la cantidad de células V δ 1+ requeridas para inactivar 50 % de las células cancerosas cuando no se aplica dicho anticuerpo.

15 En un aspecto adicional de la invención se proporciona un método para seleccionar o caracterizar o comparar anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos como se describen en la presente que se fijan a la cadena V δ 1 al agregar dichos anticuerpos a dicha población de células que comprenden células V δ 1+ más células cancerosas y luego medir las cantidades de células V δ 1+ requeridas para inactivar 50 % de las células cancerosas.

20 **Medicamentos que mejoran la citotoxicidad de EC50 de células V δ 1+**

Una manera alternativa para medir la citotoxicidad mejorada de las células V δ 1+ humanas o población de estas es medir la cantidad de células requeridas para inactivar 50 % de las células cancerosas durante un período de tiempo establecido en condición A (tal como control de inicio) y comparar esto a la cantidad de células requeridas para inactivar 50 % de las células cancerosas durante un período de tiempo establecido en condición B (tal como tras la aplicación del anticuerpo de la invención como se describe en la presente).

Si bien se reconoce que hay una variedad de maneras para medir tales parámetros, para ayudar a comprender, se detallará el siguiente ejemplo hipotético no limitativo:

Hipotéticamente, la mejora en la citotoxicidad de células efectoras puede medirse de la siguiente manera:- En la condición A (tratamiento de control) se observa que se requieren 1000 células V δ 1+ para inactivar 50 % de las células cancerosas durante un período de

tiempo establecido (por ejemplo, 5 horas). En la condición B (por ejemplo, la aplicación del anticuerpo de la invención que se describe en la presente) se observa que se requirieron 500 células V δ 1+ para inactivar 50 % de las células cancerosas durante el mismo período de tiempo. Por lo tanto, en este ejemplo, la aplicación de un anticuerpo mejoró la citotoxicidad de la población de células V δ 1+ en 200 %:

$$(1000/500) \times 100 = 200 \%$$

Por ejemplo (por ejemplo, ver Ejemplos 19 a 21), sorprendentemente, se observaron tales mejoras de porcentaje para los anticuerpos de la invención como se describe en la presente.

- 10 En un aspecto adicional de la invención se proporciona un método para seleccionar o caracterizar o comparar anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos como se describen en la presente que se fijan a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ al agregar dichos anticuerpos a dicha población de células inmunitarias mixtas que comprenden células V δ 1+ y células cancerosas y determinar el cambio relativo o en porcentaje de la citotoxicidad en
- 15 comparación con un experimento de control o equivalente en donde no hay aplicación de dicho anticuerpo a dicha mezcla de células.

Medicamentos que mejoran la especificidad de células enfermas de células V δ 1+ mientras preservan las células sanas.

- Otro enfoque para evaluar los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos como se describen en la presente es medir cómo dichos anticuerpos modulan la citotoxicidad específica de células enfermas. Sorprendentemente durante tales estudios, se descubrió que tales anticuerpos pueden mejorar específicamente la inactivación específica de células V δ 1+ de células enfermas tales como células cancerosas (por ejemplo, ver los Ejemplos 19 y 27) mientras preservan las células sanas o no enfermas. Los medicamentos de anticuerpos
- 20 ideales que se administran a un paciente para mejorar un síntoma de cáncer conferirán citotoxicidad mejorada específicamente hacia las células enfermas mientras preservan las células sanas. Y se puede decir que los medicamentos que mejoran la citotoxicidad de células efectoras específicamente hacia células enfermas, tales como células cancerosas, exhiben un índice terapéutico mejorado (TI) sobre medicamentos que no mejoran selectivamente la
- 25
- 30 citotoxicidad de células efectoras específicamente hacia dichas células enfermas. El índice terapéutico también se denomina relación terapéutica y es una medición cuantitativa de la

seguridad relativa de un fármaco. Es una comparación de la cantidad de un agente terapéutico que produce el efecto terapéutico con respecto a la cantidad que causa toxicidad, por ejemplo, al conferir la muerte no deseada en poblaciones de células sanas relacionadas o relevantes. Un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se describe en la presente se puede evaluar al medir su capacidad de cambiar o mejorar, o mejorar en el plegamiento la capacidad de células V δ 1+ para inactivar selectivamente las células enfermas más allá de las células sanas en sistemas modelo. Por ejemplo, dichos sistemas modelo pueden comprender células efectoras V δ 1+, células cancerosas y células de control (tales como células sanas). Opcionalmente, la mejora en el plegamiento en la inactivación selectiva de células enfermas conferida por los anticuerpos de la invención luego se pueden comparar con la mejora en el plegamiento observada cuando se aplica un anticuerpo comparativo alternativo (por ejemplo, OKT-3) a dichos sistemas modelo.

La especificidad de células enfermas y la mejora en la especificidad de células enfermas de las células V δ 1+ se pueden medir en cultivos que comprenden células V δ 1+, células enfermas y células sanas. Por ejemplo, la especificidad de V δ 1+ hacia las células enfermas se puede medir al observar la cantidad de células cancerosas inactivadas por las células V δ 1+ y luego comparar la cantidad de células sanas inactivadas por las células V δ 1+. Tales comparaciones se pueden controlar al incluir cantidades equivalentes de las células enfermas y células sanas en un sistema modelo que también contiene células V δ 1+, por ejemplo, “tricultivos”. También puede considerarse otra metodología de comparación alternativa, por ejemplo, cuando las limitaciones analíticas o de equipo reducen la capacidad de distinguir y monitorear todos los tres tipos de célula o más en paralelo en un ensayo único (que incluye las células V δ 1+, células enfermas y células no enfermas). En dichas instancias, al comparar la citotoxicidad de células V δ 1+ hacia las células enfermas en un experimento y luego al comparar la citotoxicidad de células V δ 1+ hacia las células sanas en un experimento equivalente separado se ofrece un enfoque alternativo a tales estudios.

En otro aspecto de la invención, se proporciona un método para evaluar un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ que comprende administrar el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este a una población de células que comprende células V δ 1+ y células diana y medir la especificidad citotóxica de las células hacia las células diana. En una forma de realización, la especificidad

de citotoxicidad de células a un primer tipo de célula diana se puede comparar a la citotoxicidad observada hacia un segundo tipo de célula diana, por lo tanto, el método puede repetirse mediante el uso de diferentes tipos de célula diana. En un aspecto adicional de la invención, el primer tipo de célula diana es una célula enferma y el segundo tipo de célula diana es una célula de control tal como una célula sana o una célula con una enfermedad diferente al primer tipo de célula diana.

En un aspecto adicional de la invención se proporciona un método para seleccionar o caracterizar o comparar anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos como se describen en la presente que se fijan a la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$, en donde se mide y se compara el efecto conferido por dicho anticuerpo sobre la citotoxicidad de células V δ 1+ hacia (i) un primer tipo de célula y (ii) un segundo tipo de célula. En un aspecto adicional de la invención se selecciona así un anticuerpo que mejora la citotoxicidad específica hacia el primer tipo de célula más que hacia el segundo tipo de célula. En un aspecto adicional de la invención, el primer tipo de célula es una célula enferma y el segundo tipo de célula es una célula sana.

Como se describe en la presente, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos usados en los ensayos pueden presentarse en una superficie, por ejemplo, la superficie de una célula, tal como una célula que comprende un receptor Fc. Por ejemplo, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos pueden presentarse en la superficie de las células THP-1, tales como las células TIB-202™ (disponibles a través de American Type Culture Collection (ATCC)). Alternativamente, los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos pueden usarse directamente en los ensayos.

En tales ensayos funcionales, la producción puede medirse al calcular la mitad de la concentración máxima, también denominada "EC50" o "concentración eficaz a 50 por ciento".

El término "IC50" se refiere a la concentración inhibitoria. Tanto EC50 como IC50 pueden medirse con métodos conocidos en la técnica, tales como métodos de citometría de flujo. En algunos casos, EC50 e IC50 son el mismo valor o pueden considerarse equivalentes. Por ejemplo, la concentración eficaz (EC) de las células efectoras requeridas para inhibir (por ejemplo, inactivar) 50 % de un cierto tipo de célula también puede considerarse el 50 % de la concentración inhibitoria (IC). Para evitar dudas, los valores de EC50 en la presente solicitud se proporcionan mediante el uso del anticuerpo con formato IgG1 cuando se refiere a un

anticuerpo. Tales valores se pueden convertir fácilmente en función del peso molecular del formato de anticuerpo para los valores equivalentes de la siguiente manera:

$$(\mu\text{g/ml}) / (\text{MW en kDa}) = \mu\text{M}$$

5

La EC50 para la regulación descendente del TCR $\gamma\delta$ tras la fijación del anticuerpo (o fragmento) para los clones parentales que se describen en la presente puede ser menor de 0,50 $\mu\text{g/ml}$, tal como menor de 0,40 $\mu\text{g/ml}$, 0,30 $\mu\text{g/ml}$, 0,20 $\mu\text{g/ml}$, 0,15 $\mu\text{g/ml}$, 0,10 $\mu\text{g/ml}$, 0,06 $\mu\text{g/ml}$ o 0,05 $\mu\text{g/ml}$. En una forma de realización preferida, la EC50 para la regulación descendente del TCR $\gamma\delta$ tras la fijación del anticuerpo (o fragmento) es menor de 0,10 $\mu\text{g/ml}$. En particular, la EC50 para la regulación descendente del TCR $\gamma\delta$ tras la fijación del anticuerpo (o fragmento) puede ser menor de 0,06 $\mu\text{g/ml}$, tal como menor de 0,05 $\mu\text{g/ml}$, 0,04 $\mu\text{g/ml}$ o 0,03 $\mu\text{g/ml}$. En particular, dichos valores de EC50 son cuando el anticuerpo se mide en un formato IgG1. Por ejemplo, el valor de EC50 para la regulación descendente de TCR $\gamma\delta$ se puede medir mediante citometría de flujo (por ejemplo, como se describe en el ensayo del Ejemplo 6 y 27).

En particular, la EC50 para la desgranulación de linfocitos T $\gamma\delta$ tras la fijación del anticuerpo (o fragmento) puede ser menor de 0,050 $\mu\text{g/ml}$, tal como menor de 0,040 $\mu\text{g/ml}$, 0,030 $\mu\text{g/ml}$, 0,020 $\mu\text{g/ml}$, 0,015 $\mu\text{g/ml}$, 0,010 $\mu\text{g/ml}$ o 0,008 $\mu\text{g/ml}$. En particular, la EC50 para la desgranulación de linfocitos T $\gamma\delta$ tras la fijación del anticuerpo (o fragmento) puede ser menor de 0,005 $\mu\text{g/ml}$, tal como menor de 0,002 $\mu\text{g/ml}$. En una forma de realización preferida, la EC50 para la desgranulación de linfocitos T $\gamma\delta$ tras la fijación del anticuerpo (o fragmento) es menor de 0,007 $\mu\text{g/ml}$. En particular, dichos valores de EC50 son cuando el anticuerpo se mide en un formato IgG1. Por ejemplo, el valor de EC50 para la desgranulación de linfocitos T $\gamma\delta$ se puede medir al detectar la expresión CD107a (es decir, un marcador de desgranulación de células) mediante citometría de flujo (por ejemplo, como se describe en el ensayo del Ejemplo 7). En una forma de realización, la expresión de CD107a se mide con un anticuerpo anti-CD107a, tal como anti-CD107a BV421 humano (clon H4A3) (BD Biosciences).

La EC50 para la inactivación de linfocitos T $\gamma\delta$ tras la fijación del anticuerpo (o fragmento) puede ser menor de 0,50 $\mu\text{g/ml}$, tal como menor de 0,40 $\mu\text{g/ml}$, 0,30 $\mu\text{g/ml}$, 0,20 $\mu\text{g/ml}$, 0,15 $\mu\text{g/ml}$, 0,10 $\mu\text{g/ml}$ o 0,07 $\mu\text{g/ml}$. En una forma de realización preferida, la EC50 para la

30

inactivación de linfocitos T $\gamma\delta$ tras la fijación del anticuerpo (o fragmento) es menor de 0,10 $\mu\text{g/ml}$. En particular, la EC50 para la inactivación de linfocitos T $\gamma\delta$ tras la fijación del anticuerpo (o fragmento) puede ser menor de 0,060 $\mu\text{g/ml}$, tal como menor de 0,055 $\mu\text{g/ml}$, en particular menor de 0,020 $\mu\text{g/ml}$. En particular, dichos valores de EC50 son cuando el anticuerpo se mide en un formato IgG1. Por ejemplo, el valor de inactivación de linfocitos T $\gamma\delta$ de EC50 se puede medir al detectar la proporción de células muertas (es decir, con un colorante de viabilidad celular) mediante el uso de citometría de flujo después de la incubación del anticuerpo, linfocito T $\gamma\delta$ y células diana (por ejemplo, como se describe en el ensayo del Ejemplo 8). En una forma de realización, la muerte de la célula diana se mide con un colorante de viabilidad celular que es Viability Dye eFluor™ 520 (ThermoFisher).

En los ensayos descritos en estos aspectos, el anticuerpo o fragmento de fijación de antígeno de este puede presentarse en la superficie de una célula, tal como una célula THP-1, por ejemplo, TIB-202™ (ATCC). Las células THP-1 se etiquetan opcionalmente con un tinte, tal como CellTracker™ Orange CMTMR (ThermoFisher).

Medicamentos que regulan de manera descendente las moléculas de CD3 asociadas con un TCR V δ 1.

En la presente se presentan anticuerpos que acoplan el complejo de linfocitos T/CD3 de manera diferencial. Específicamente, estos anticuerpos pueden acoplarse a través del dominio de TRDV1 de los TCR V δ 1 expresados solo en células V δ 1+. De este modo, tales medicamentos funcionan de manera diferencial. A su vez, este evento de acoplamiento puede regular de manera descendente los complejos de moléculas de CD3 asociados a TCR. Dicha regulación descendente de CD3 puede ser sinónimo de activación de linfocitos T. Sin embargo, al acoplar el complejo de linfocitos T/CD3 a través del dominio de TRDV1 de esta manera, solo las moléculas CDR3 asociadas con el TCR V δ 1 están reguladas de manera descendente. Este mecanismo se muestra claramente en la Figura 55.

Por lo tanto, en una forma de realización, se proporciona un método para regular de manera descendente un TCR V δ 1 que contiene TRDV1 y el complejo de moléculas CD3 asociado en la superficie de una célula con un anticuerpo, y el uso de tales anticuerpos para este propósito.

En algunas formas de realización, también se presentan en la presente TCE multiespecíficos que pueden acoplar el complejo de linfocitos T/CD3 a través del dominio de TRDV1. Los

medicamentos actuales multiespecíficos con formato TCE suelen acoplar y activar un linfocito T a través de eventos de fijación a CD3. Esto puede dar como resultado la regulación descendente de complejos de moléculas CD3 de la superficie de un linfocito T. Sin embargo, también se entiende bien que los TCE también puede sobreestimar linfocitos T a través de tal acoplamiento y regulación descendente. Los complejos de moléculas CD3 no son específicos a una clase de linfocitos T y por lo tanto no son una diana precisa a la que dirigirse. La estimulación de todos los linfocitos T (principalmente el subtipo $\alpha\beta$) a través de CD3 a su vez puede dar como resultado la sobreproducción de citocinas, lo que conduce a brotes agudos de citocina (las denominadas tormentas de citocinas). Además, en los enfoques no dirigidos que acoplan y activan todos los linfocitos T a través de CD3, paradójicamente los linfocitos T pueden volverse sobreactivados lo que conduce al agotamiento de linfocitos T y/o muerte de linfocitos T. En efecto, esta activación de linfocitos pan T no específicos conduce a la activación de linfocitos T efectores y reguladores mientras que el enfoque presentado en la presente interactúa específicamente con una población efectora. Por lo tanto, esta solución radical está lejos de ser ideal cuando se desea regular de manera ascendente solo los linfocitos T selectivos.

Por el contrario, en la presente se presentan anticuerpos multiespecíficos, en particular acopladores de linfocitos T, que acoplan el complejo de linfocitos T/CD3 de manera diferencial. Específicamente, estos TCE pueden acoplarse a través del dominio de TRDV1 de los TCR V δ 1 expresados solo en células V δ 1+. De este modo, tales medicamentos a base de TCE funcionan de manera diferencial. Primero, estos TCE pueden regular de manera descendente un TCR a través del acoplamiento de un epítipo de TRDV-1. A su vez, este evento de acoplamiento regula de manera descendente los complejos de moléculas CD3 asociados con TCR. Tal regulación de manera descendente de CD3 puede ser sinónimo de activación de linfocitos T. Sin embargo, al acoplar el complejo de linfocitos T/CD3 a través del dominio TRDV1 de esta manera, solo las moléculas de CDR3 asociadas con el TCR V δ 1 están reguladas de manera descendente luego. Este enfoque de direccionamiento y activación de células V δ 1 específicos permite evitar muchos de los problemas anteriores (tormentas de citocinas, agotamiento/disminución de linfocitos T y ADCC, por ejemplo). Nuevamente, este mecanismo se muestra claramente en la Figura 55.

La estimulación de linfocitos T a través del enfoque radical de CD3 también puede contribuir a

la disminución de linfocitos T a través de mecanismos impulsados por el receptor Fc gamma, tal como ADCC. Por lo tanto, la mayoría de los anticuerpos biespecíficos con direccionamiento de CD3 actualmente en la práctica clínica tienen dominios Fc con actividad reducida de fijación a FcγR o son fragmentos biespecíficos intencionalmente sin la región Fc. Los tratamientos de direccionamiento de CD3 también pueden tener afinidad de fijación reducida de los brazos de fijación del complejo receptor de linfocitos T.

Esta reducción en la afinidad puede dar como resultado una eficacia reducida y menos opcionalidad en términos de diseño y funcionalidad de TCE. Por ejemplo, se sabe que la afinidad de los dominios de fijación en tales TCE impulsa el perfil de distribución *in vivo*.

Específicamente, se suele observar que la distribución de TCE está sesgada hacia su diana de mayor afinidad. Por lo tanto, al reducir la afinidad de un dominio de fijación a TCE al complejo de linfocitos T, se suele sesgar luego la distribución fuera de los linfocitos T; los mismos linfocitos necesarios para impulsar la eficacia en tales TCE. En parte es por dichas razones que las ventanas terapéuticas de TCE se denominaron “prohibitivamente estrechas”.

El enfoque que se presenta aquí se dirige y activa específicamente células Vδ1, lo que evita la necesidad de eliminar la función Fc o reducir la afinidad.

Además, en el enfoque presentado en la presente, los anticuerpos se acoplan en el TCR de células Vδ1 pero no se produce una activación completa a menos que también haya células tumorales. Un acoplamiento completo de los anticuerpos presentados en la presente en el TCR conduce a una regulación descendente parcial y las células Vδ1 fijadas a los anticuerpos presentados en la presente solo se activan por completo y se vuelven citotóxicas en el microentorno tumoral. Esto representa otra ventaja de seguridad vital para el enfoque presente, ya que se reduce la citotoxicidad fuera de la diana y toda la potencia de los anticuerpos presentes para activar las células Vδ1 solo se produce en presencia de células tumorales.

Se cree que un mecanismo detrás de la capacidad de los linfocitos T γδ para detectar señales de estrés en las células tumorales se debe a los NCR (receptores de citotoxicidad naturales) que expresan. Los NCR son capaces de acoplar los ligandos de NCR en las células tumorales. Por lo tanto, se emplea un mecanismo de activación doble, en donde los linfocitos T γδ se activan a través de la estimulación de TCR y los NCR detectan las células tumorales para permitir una activación completa y la citotoxicidad.

Esto se diferencia de la estimulación de linfocitos T $\alpha\beta$ a través de CD3, en donde toda la estimulación es a través del TCR. Por lo tanto, tales células son casi indistintas entre células sanas o transformadas porque pueden no tener esta detección independiente de presentación de antígenos de las células tumorales a través de los NCR. Por lo tanto, si los anticuerpos

5 contra CD3 tienen habilitación de Fc, atraerán otras células inmunitarias que pueden desencadenar una cascada de eventos impredecibles y deseables tales como tormentas de citocinas, agotamiento e incluso sobreactivación de células inmunitarias, lo que conduce, por ejemplo, a la inactivación de los linfocitos T por parte de las células NK, etc. En el presente enfoque, la estimulación de los linfocitos T $\gamma\delta$ con los anticuerpos presentados en la presente

10 no conduce a tales preocupaciones porque los linfocitos T $\gamma\delta$ (y otras células inmunitarias tales como células NK) son capaces de distinguir entre células sanas y células tumorales, incluso a través de su mecanismo de detección de NCR y, por lo tanto, inactivan selectivamente las células estresadas tales como las células cancerosas o las células infectadas víralmente por esta especificidad de células enfermas.

15 Por ejemplo, en estudios iniciales de *Macaca fascicularis* con el anticuerpo multiespecífico anti-V δ 1 habilitados por Fc presentado en la presente, con especificidad tanto para antígeno V δ 1 humano como de *Macaca fascicularis* (por ejemplo, SEQ ID NO: 272 y SEQ D NO: 308, respectivamente), se descubrió que era seguro y bien tolerado, en estudios *in-vivo* de dosis crecientes, dosis repetidas por todos los parámetros medidos. No se observó ninguno de los

20 efectos secundarios que se suelen asociar con la activación de linfocitos T, tales como liberación de citocinas o pérdida de peso.

Estos hallazgos también resaltan otra ventaja del enfoque descrito en la presente. Específicamente, y a diferencia de los TCE tipificados por acopladores de CD3 y similares, los

25 biospecíficos de TCE de la invención se pueden diseñar opcionalmente como anticuerpos de longitud completa, por ejemplo, que comprenden cadenas pesadas con un formato VH-CH1-CH2-CH3 con cadenas livianas cognadas con un formato VL-CL. A diferencia de los formatos biospecíficos más pequeños (por ejemplo, menores de 70 KDa), dicho formato biospecífico de longitud completa puede exhibir semividas *in vivo* más largas y, por lo tanto, puede requerir

30 regímenes de dosificación menos frecuentes. Las semividas más largas que se observan por tales formatos son por una variedad de razones que incluyen mayor tamaño (>70 KDa) que significa que los riñones no filtran tales formatos (corte del tamaño de los poros del glomérulo

60-70 KDa). En una forma de realización, los anticuerpos multiespecíficos pueden ser mayores que alrededor de 70 KDa y pueden comprender secuencia de IGHC humana (por ejemplo, secuencia IGHA, IGHD, IGHD, IGHM, IGHG) según se enumera en IMGT. Tales formatos de IgG1 también pueden reciclarse por mecanismo de FcRn. La clara desventaja de dichos formatos de anticuerpo de longitud completa para biespecíficos de TCE en particular es que dicho formato exhibe perfiles de seguridad desfavorables debido a la tasa de depuración reducida, mayores exposiciones y más crónicas.

Por lo tanto, el enfoque presente permite la posibilidad de funcionalidad de Fc sin ninguna preocupación por los efectos secundarios, tales como las células NK que inactivan linfocitos T $\gamma\delta$ o viceversa. Por lo tanto, el presente enfoque es superior a los enfoques dirigidos mediante CD3 que están atrasados por la necesidad de soluciones alternativas tales como reducir la afinidad de CD3, eliminar la función de Fc, etc. para limitar el daño colateral fuera del entorno tumoral. Los anticuerpos multiespecíficos, en particular los acopladores de linfocitos T, que se presentan aquí son capaces de fijarse a células V δ 1 sin ningún daño potencial y solo se acopla la activación completa y mejora de la citotoxicidad cuando las células V δ 1 están en contacto cercano con células tumorales.

Por lo tanto, en una forma de realización se proporciona un método para regular de manera descendente un TCR V δ 1 que contiene TRDV1 y el complejo de moléculas CD3 asociadas en la superficie de una célula con un anticuerpo de TCE multiespecífico, y el uso de tales anticuerpos multiespecíficos para este propósito.

Otras características y ventajas de la presente invención serán evidentes a partir de la descripción proporcionada en la presente. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la descripción y los ejemplos específicos, si bien indican formas de realización preferidas de la invención, se proporcionan solo a modo ilustrativo, ya que diversos cambios y modificaciones se volverán evidentes para las personas del oficio de nivel medio. La invención se describirá ahora mediante los siguientes ejemplos no limitativos:

EJEMPLOS

EJEMPLO 1. Materiales y métodos

Descubrimiento de anticuerpos humanos

Se empleó expresión en fago humano para generar los anticuerpos humanos anti-dominio V δ 1+ variable humano como se describen en la presente. La colección se construyó de la

manera descrita en Schofield *et al.* (*Genome biology* 2007, **8**(11): R254) y comprendió una variable de fragmento monocatenarios (scFv) que presenta una colección de ~40 mil millones de clones humanos. Esta colección se cribó mediante el uso de antígenos, métodos, selecciones, desección, cribado y estrategias de caracterización descritos en la presente.

5 Preparación de antígenos

El diseño de los heterodímeros solubles de TCR $\gamma\delta$ que comprenden las regiones constantes TCR α y TCR β usados en los siguientes ejemplos se generó de acuerdo con Xu *et al.* (2011) *PNAS* 108: 2414-2419. Los dominios V γ o V δ se fusionaron en marco a una región constante TCR α o TCR β que carecía el dominio transmembrana, seguido de una secuencia de cremallera de leucina o una secuencia Fc, y una etiqueta de histidina/ligador.

El constructo de expresión se transfectó de manera transitoria en células de suspensión EXPI HEK293 de mamífero (ya sea como transfecciones simples o conjuntas para heterodímero). Se recuperaron proteínas recombinantes segregadas y se las purificó a partir de sobrenadantes de cultivo mediante cromatografía de afinidad. Para garantizar una buena recuperación de antígeno monomérico, las muestras se purificaron adicionalmente mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) preparativa. Se analizó la pureza de los antígenos purificados mediante SDS-PAGE y su estado de agregación mediante SEC analítica.

Validación funcional de antígenos

La especificidad de los antígenos que contenían la cadena variable delta 1 (V δ 1) se confirmó en un inmunoensayo DELFIA (Perkin Elmer) y en un ensayo a base de flujo en competencia con linfocitos T $\gamma\delta$ mediante el uso de anticuerpo anti-V δ 1 REA173-Miltenyi Biotec.

Inmunoensayo de fluorescencia por lantánidos con disociación mejorada (DELFIA)

Para confirmar la especificidad del antígeno, se realizó un inmunoensayo DELFIA, en donde el antígeno se colocó directamente sobre la placa a modo de recubrimiento (3 μ g/ml de antígeno en 50 μ l de PBS) a 4°C durante la noche (Nunc N.º 437111), y con dilución en serie de los anticuerpos primarios a partir de 300 nM. Para la detección se usó Anti-IgG humana DELFIA Eu-N1 (Perkin Elmer N.º 1244-330) como anticuerpo secundario a una dilución de 1/500 en 50 μ l de 3 % de MPBS (PBS + 3 % (p/V) de leche descremada en polvo). El desarrollo fue con 50 μ l de solución mejoradora de DELFIA (Perkin Elmer N.º 4001-0010).

Se realizó una clasificación por afinidad del anticuerpo de interés con el inmunoensayo

DELFA, en el que los anticuerpos se capturaron mediante proteína G colocada como recubrimiento sobre la placa y se agregó antígeno L1 biotinilado soluble (DV1-GV4) a 5 nM en 50 μ l (3MPBS). Para la detección se usaron 50 μ l de estreptavidina-Eu (1:500 en amortiguador de ensayo, Perkin Elmer) y la señal se desarrolló con solución mejoradora de DELFIA. Se usó D1,3 hlgG1 (descrito en England *et al.* (1999) *J. Immunol.* 162: 2129-2136) como un control negativo.

Los resultados de la selección mediante expresión en fago se subclonaron en el vector de expresión de scFv pSANG10 (Martin *et al.* (2006) *BMC Biotechnol.* 6: 46). scFv soluble se expresó y se cribó en busca de fijación en DELFIA sobre dianas inmovilizadas directamente.

Los resultados positivos se definieron como una señal de DELFIA mayor de 3000 unidades de fluorescencia.

Preparación de anticuerpos

Los scFv seleccionados se subclonaron en marcos de IgG1 con el uso de plásmidos disponibles en el comercio. Se transfectaron células de suspensión expi293F con dichos plásmidos para la expresión de anticuerpos. Por conveniencia, y a menos que se indique lo contrario, los anticuerpos caracterizados en estos ejemplos se refieren a anticuerpos con formato IgG1 seleccionados de la expresión en fago como scFv. Sin embargo, los anticuerpos de la invención pueden tener cualquier formato de anticuerpo analizado anteriormente.

Purificación de anticuerpos

Los anticuerpos IgG se purificaron en lote a partir de sobrenadantes mediante cromatografía de proteína A. Luego se purificaron eluatos de proteína A concentrados mediante cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). La calidad de la IgG purificada se analizó mediante ELISA, SDS-PAGE y SEC-HPLC.

Preparación de linfocitos T $\gamma\delta$

Se prepararon poblaciones de linfocitos T $\gamma\delta$ enriquecidos de acuerdo con los métodos descritos en WO2016/198480 (es decir, linfocitos T $\gamma\delta$ derivados de la sangre) o WO2020/095059 (es decir, linfocitos T $\gamma\delta$ derivados de la piel). Sucintamente, en el caso de linfocitos T $\gamma\delta$ derivados de la sangre, se obtuvieron PBMC de la sangre y se las sometió a agotamiento magnético de los linfocitos T $\alpha\beta$. Las PBMC con agotamiento de $\alpha\beta$ luego se cultivaron en medio CTS OpTmiser (ThermoFisher) en presencia de OKT-3 (o el anticuerpo anti-V δ 1 respectivo), IL-4, IFN- γ , IL-21 y IL-1 β durante 7 días. El día 7 de cultivo, el medio se

complementó con OKT-3 (o el anticuerpo anti-V δ 1 respectivo), IL-21 e IL-15 durante 4 días más. El día 11 de cultivo, el medio se complementó con OKT-3 (o el anticuerpo anti-V δ 1 respectivo) e IL-15 durante 3 días más. El día 14 de cultivo, la mitad del medio se reemplazó por OpTmiser completo fresco y se complementó con OKT-3 (o el anticuerpo anti-V δ 1 respectivo), IL-15 e IFN- γ . A partir del día 17 de cultivo, el cultivo se complementó con OKT-3 (o el anticuerpo anti-V δ 1 respectivo) e IL-15 cada 3-4 días; la mitad del medio se reemplazó por medio fresco cada 7 días.

Para los linfocitos T $\gamma\delta$ derivados de la piel, las muestras de la piel se prepararon al eliminar la grasa subcutánea y se usó una biopsia de punción de 3 mm para realizar punciones múltiples.

Las punciones se colocaron en rejillas de matriz de carbono y se colocaron en la cavidad de una G-REX6 (Wilson Wolf). Cada cavidad se cargó con medio de aislamiento completo que contenía medio AIM-V (Gibco, Life Technologies), CTS Immune Serum Replacement (Life Technologies), IL-2 e IL-15. Durante los primeros 7 días de cultivo, se usó medio de aislamiento completo que contenía anfotericina B (Life Technologies) (“+AMP”). El medio se cambió cada 7 días al aspirar suavemente el medio superior y reemplazarlo por medio de aislamiento completo 2X (sin AMP), tratando de no alterar las células en el fondo de la placa o el biorreactor. Pasadas las tres semanas en cultivo, las células emergentes resultantes se pasaron a recipientes de cultivo de tejido fresco y medio fresco (por ejemplo, medio AIM-V o medio TexMAX (Miltenyi)) más IL-2, IL-4, IL-15 e IL-21 recombinantes antes de la recolección. Opcionalmente, los linfocitos T $\alpha\beta$ también presentes dentro del cultivo se eliminan luego con la ayuda de kits de agotamiento de linfocitos T $\alpha\beta$ y protocolos asociados, tales como los proporcionados por Miltenyi. Para una mayor referencia, ver WO2020/095059.

Ensayo de fijación a linfocitos T $\gamma\delta$

Se evaluó la fijación de los anticuerpos a linfocitos T $\gamma\delta$ al incubar una concentración fija de anticuerpos purificados con 250000 linfocitos T $\gamma\delta$. Esta incubación se realizó en condiciones de bloqueo para impedir la fijación no específica de anticuerpos a través del receptor Fc. Se realizó una detección mediante la adición de un anticuerpo secundario contra IgG1 humana conjugado con tinte fluorescente. En el caso de los controles negativos, las células se prepararon con a) solo un anticuerpo de isotipo (IgG humana recombinante), b) solo el anticuerpo anti-IgG humana conjugado con tinte fluorescente y c) una combinación de a) y b). También se preparó y analizó una cavidad de control de células sin tinción alguna. Como

controles positivos, se usaron un anticuerpo anti-CD3 humano IgG2 monoclonal murino purificado y un anticuerpo anti-TCR V δ 1 humano IgG1 monoclonal murino purificado en dos concentraciones diferentes y se los tiñó con un anticuerpo secundario anti-ratón de cabra conjugado con tinte fluorescente. El ensayo se aceptó si la media de intensidad de fluorescencia en el canal FITC de los controles positivos con menor concentración fue al menos diez veces más alta que el control negativo más alto.

Análisis de SPR

Se usó un instrumento MASS-2 con un chip de alta capacidad de amina (ambos de Sierra Sensors, Alemania) para realizar un análisis de SPR. Se capturaron 15 nM de IgG mediante proteína G en un chip de alta capacidad de amina (100 nM para TS8,2). Se pasó antígeno L1 (DV1-GV4) por encima de la célula en una serie de dilución de 1:2 desde 2000 nM hasta 15,625 nM con los siguientes parámetros: 180 s de asociación, 600 s de disociación, velocidad de flujo 30 μ l/min, amortiguador de corrida PBS + 0,02 % de Tween 20. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente en un instrumento MASS-2. El ajuste de estado estacionario se determinó de acuerdo con una fijación de Langmuir 1:1 mediante el uso del *software* Sierra Analyzer 3.2.

Anticuerpos comparativos

Los anticuerpos de la invención se compararon de la manera descrita con anticuerpos disponibles en el comercio en ensayos de prueba.

Anticuerpo	Fuente	N.º de catálogo
Anticuerpo anti-CD3 humano purificado Ultra-LEAF™ (OKT3), funcional	Biolegend	317326
Anticuerpo anti-IgG2a humana purificado Ultra-LEAF™ (control de isotipo para OKT3)	Biolegend	400264
mAb purificado contra TCR V δ 1 humano (TS8,2 funcional)	ThermoFisher	TCR1730
Anticuerpo de control de isotipo κ contra IgG1 de ratón purificado Ultra-LEAF™ para TS8,2	Biolegend	400166

BV421 anti-CD107a humano (clon H4A3)	BD Biosciences	562623
Clon X40 de control de isotipo k contra IgG1 de ratón BV421 (RUO)	BD Biosciences	562438
Anti-TCR Vδ1-PE-Vio770, humano (flujo, discontinuado)	Miltenyi	130-100-540
Cetuximab	Internamente	-
D1,3 HEL (anti-lisozima de pollo; VH-VL de ratón + Fc de IgG1 humana).	Internamente	-
Anti-RSV (es decir, motavizumab)	Internamente	-

Ensayo de desgranulación y regulación descendente de TCR γδ

Las células diana THP-1 (TIB-202™, ATCC) cargadas o no con anticuerpos de prueba se etiquetaron con CellTracker™ Orange CMTMR (ThermoFisher, C2927) y se incubaron con linfocitos T γδ a una relación de 2:1 en presencia del anticuerpo CD107a (BV421 anti-CD107a humano (clon H4A3) BD Biosciences 562623). Después de 2 horas de incubación, se evaluaron mediante citometría de flujo la expresión superficial de TCR γδ (para medir la regulación descendente de TCR) y la expresión de CD107a (para medir la desgranulación) en los linfocitos T γδ.

10 Ensayo de inactivación (por ejemplo, para la Figura 6)

Se evaluaron mediante citometría de flujo la actividad de inactivación de los linfocitos T gamma delta y el efecto de los anticuerpos de prueba sobre la actividad de inactivación de los linfocitos T γδ. Después de 4 horas de cocultivo *in vitro* a una relación de 20:1 de linfocitos T γδ y células THP-1 etiquetadas con CellTracker™ Orange CMTMR (ThermoFisher, C2927) (cargadas o no con el anticuerpo), se las tiñó con Viability Dye eFluor™ 520 (ThermoFisher, 520 65-0867-14) para distinguir entre células THP-1 diana vivas y muertas. Durante la adquisición de muestra, las células diana se regularon en la positividad CellTracker™ Orange CMTMR y se examinaron para determinar la muerte celular en función de la absorción del tinte de viabilidad. Las células doble positivas CMTMR y eFluor™ 520 se reconocieron como las células diana muertas. La actividad de inactivación de los linfocitos T γδ se presentó como un % de las células diana muertas.

Mapeo de epítomos

Todas las muestras de proteínas (antígeno L1 (DV1-GV4) y anticuerpos 1245_P01_E07, 1245_P02_G04, 1252_P01_C08, 1251_P02_C05 y 1141_P01_E01) usadas para el mapeo de epítomos se analizaron para determinar la integridad y el nivel de integración de las proteínas con una MALDI de alta masa.

Para determinar el epítopo de los complejos de L1(DV1-GV4)/1245_P01_E07, L1(DV1-GV4)/1245_P02_G04, L1(DV1-GV4)/1252_P01_C08, L1(DV1-GV4)/1251_P02_C05 y L1(DV1-GV4)/1141_P01_E01 con alta resolución, los complejos de proteínas se incubaron con reticuladores deuterados y se sometieron a proteólisis multienzimática con el uso de tripsina, quimotripsina, Asp-N, elastasa y termolisina. Después del enriquecimiento de los péptidos reticulados, las muestras se analizaron mediante espectrometría de masas de alta resolución (nLC-LTQ-Orbitrap MS) y los datos generados se analizaron con los software XQuest y Stavrox.

Ensayo de inactivación de flujo SYTOX

El ensayo SYTOX permite la cuantificación de la citólisis mediada por linfocitos T de las células diana mediante citometría de flujo. Las células muertas/moribundas son detectadas por una tinción de células muertas (SYTOX® AADvanced™, Life Technologies, S10274) que solo penetra las células con membranas plasmáticas comprometidas pero no puede cruzar las membranas celulares intactas de las células sanas. Las células diana NALM-6 se etiquetaron con tinte CTV (Cell Trace Violet™, Life Technologies, C34557) y pudieron distinguirse así de los linfocitos T efectoras no etiquetados. Las células diana muertas/moribundas son detectadas a través de tinción doble del tinte de células muertas y tinte de cantidades mínimas de células.

Después de 16 horas de cocultivo *in vitro* de células diana efectoras y etiquetadas con CTV a relaciones indicadas de efector con respecto a diana (E:T, 1:1 o 10:1), las células se tiñeron con SYTOX® AADvanced™ y se adquirieron en un FACSLytic™ (BD). Los resultados de inactivación se presentan como % de reducción de células diana, que se calcula al tomar en cuenta la cantidad de células diana vivas (recuentos de muestra) en las muestras de prueba sobre las células diana vivas en las cavidades de control sin adición de células efectoras (recuentos máximos):

$$\% \text{ de reducción diana} = 100 - ((\text{recuentos de muestra} / \text{recuentos máximos}) \times 100)$$

EJEMPLO 2. Diseño de antígenos

Los linfocitos T gamma delta ($\gamma\delta$) son policlonales con policlonalidad de CDR3. Para evitar una situación en la que los anticuerpos generados se seleccionarían contra la secuencia de CDR3 (como la secuencia de CDR3 diferiría de clon de TCR a clon de TCR), el diseño del antígeno implicó mantener una CDR3 consistente en los diferentes formatos. El objetivo de este diseño era generar anticuerpos que reconocieran una secuencia dentro del dominio variable, que está codificado por la línea germinal y es por ende igual en todos los clones, para proporcionar así anticuerpos que reconozcan un subconjunto más amplio de linfocitos T $\gamma\delta$.

Otro aspecto importante del proceso de preparación de antígenos fue el diseño de antígenos adecuados para la expresión como proteínas. TCR $\gamma\delta$ es una proteína compleja que implica un heterodímero con enlaces disulfuro intercatenarios e intracatenarios. Se usaron un formato de cremallera de leucina (LZ) y un formato de Fc para generar antígenos de TCR soluble que se usarán en las selecciones de expresión en fago. Tanto el formato de LZ como el formato de Fc se expresaron bien y presentaron exitosamente el TCR (particularmente TCR heterodiméricos, por ejemplo, V δ 1V γ 4).

Se descubrió que la secuencia de CDR3 de una entrada de una base de datos pública para el TCR $\gamma\delta$ se expresó bien como proteínas (entradas del RCSB Protein Data Bank: 3OMZ). Por lo tanto, se la seleccionó para la preparación de los antígenos.

Los antígenos que contenían la cadena variable delta 1 se expresaron en formatos de LZ como un heterodímero (es decir, en combinación con diferentes cadenas variables gamma, "L1", "L2", "L3") y en formato de Fc ya sea como un heterodímero ("F1", "F2", "F3") o como un homodímero (es decir, en combinación con otra cadena variable delta 1, "Fc1/1"). Todas las cadenas variables delta 1 de los antígenos contenían la 3OMZ CDR3. Se diseñó otra serie de antígenos TCR $\gamma\delta$ con formatos similares que contenían diferentes cadenas variables delta (tales como variable delta 2 y variable delta 3) y se la usó para deseleccionar anticuerpos con fijación no específica o fuera de la diana ("L4", "F9", "Fc4/4", "Fc8/8"). Estos antígenos también se diseñaron a fin de que incluyan la 3OMZ CDR3 para garantizar la desección de los anticuerpos que se fijan en la región CDR3.

Se realizó una validación funcional de antígenos para confirmar que los antígenos diseñados serían adecuados para generar anticuerpos anti-TRDV1 (variable delta 1 de TCR). Solo se

observó detección con los antígenos que contenían el dominio $\delta 1$ (**Figura 1**).

EJEMPLO 3. Expresión en fago

Se realizaron selecciones de expresión en fago con colecciones de scFv humanos mediante el uso de formato de TCR de LZ heterodimérico en rondas 1 y 2, con desecciones en LZ TCR heterodimérico en ambas rondas. O la ronda 1 se realizó mediante el uso de TCR de fusión de Fc homodimérico con desección en Fc de IgG1 humana seguida de ronda 2 en LZ TCR heterodimérico con desección en LZ TCR heterodimérico (ver **Tabla 7**).

Tabla 7. Resumen de selecciones de expresión en fago

Diana	Selección de la ronda 1	Deselección de la ronda 1	Selección de la ronda 2	Deselección de la ronda 2
DV1	bt-L1 (DV1-GV4)	L4 (DV2-GV4)	bt-L3 (DV1-GV8)	L4 (DV2-GV4)
DV1	bt-Fc1/1 (DV1-DV1)	Fc	bt-L1 (DV1-GV4)	L4 (DV2-GV4)

bt = biotina.

- 10 Se realizaron selecciones en fase de solución con el uso de proteínas biotiniladas 100 nM. Se realizaron desecciones con el uso de proteínas no biotiniladas 1 μ M.

Se analizó el éxito de las selecciones de expresión en fago mediante ELISA de fago policlonal (DELFI). Todos los resultados de la selección de DV1 mostraron la fijación deseada a las dianas Fc 1/1, L1, L2, L3, F1 y F3. Se detectaron grados variables de fijación a las no dianas L4, F9, Fc 4/4, Fc 8/8 y Fc (ver las **Figuras 2A y B**).

EJEMPLO 4. Selección de anticuerpos

Se secuenciaron los resultados positivos obtenidos en el Ejemplo 3 (con métodos estándar conocidos en la técnica). Se identificaron 130 clones únicos, los cuales mostraron una combinación única de CDR3 VH y VL. De estos 130 clones únicos, 125 mostraron una CDR3 VH única y 109 mostraron una CDR3 VL única.

Los clones únicos se dispusieron nuevamente y se analizó la especificidad mediante ELISA (DELFI). Se identificó a partir de las selecciones un panel de 94 aglutinantes de scFv humanos únicos que se fijan a TRDV1 (L1, L2, L3, F1, F2, F3) pero no a TRDV2 (L4).

- 25 Se incluyó una clasificación por afinidad de los aglutinantes seleccionados para ayudar a elegir los clones en lo sucesivo. Una gran cantidad de aglutinantes mostró afinidades en el rango nanomolar, al reaccionar con 25-100 nM de antígeno biotinilado. Unos pocos

aglutinantes mostraron una reacción fuerte con 5 nM de antígeno, lo que indica posibles afinidades nanomolares de un solo dígito. Algunos aglutinantes no mostraron reacción con 100 nM de antígeno, lo que indica afinidades en el rango micromolar.

Para la selección de clones a fin de proceder con la conversión en IgG, el objetivo fue incluir la mayor cantidad posible de linajes de la línea germinal y de CDR3 diferentes. Además, se evitaban los problemas de secuencia como la glicosilación, sitios de fijación a integrina, sitios de fijación a CD11c/CD18 y cisteínas no apareadas. Además, se incluyeron diversas afinidades.

Se cribaron los clones seleccionados en busca de fijación a $\gamma\delta$ TCR natural expresado en la superficie celular mediante el uso de linfocitos T $\gamma\delta$ derivados de la piel obtenidos de donantes diferentes. Los clones seleccionados para convertirlos en IgG se muestran en la **Tabla 8**.

Tabla 8. Aglutinantes de DV1 para la conversión de IgG

Clon ID	CDR1 pesada	SEQ ID NO.	CDR2 pesada	SEQ ID NO.	CDR3 pesada	SEQ ID NO.	CDR1 liviana	SEQ ID NO.	CDR2 liviana	SEQ	CDR3 liviana	SEQ ID NO.	100 nM de L1
1245_P0 2_G04	GDSVSS KSAA	51	TYYRSK WST	53	TWSGY VDV	54	QDIND W	79	DAS	80	QQSY STPQV T	81	5896
1245_P0 1_E07	GFTFSD YY	130	ISSSGSTI	131	VDYADA FDI	132	QSIGT Y	144	VAS	145	QQSY STLLT	146	1625 91
1252_P0 1_C08	GFTVSS NY	317	IYSGGST	318	PIELGAF DI	319	NIGSQ S	347	YDS	348	QVWD SSSDH VV	349	1977
1245_P0 1_B07	GFTFSD YY	320	ISSSGSTI	321	ENYLNA FDI	322	QSLSN Y	350	AAS	351	QQSY STPLT	352	6427 1
1251_P0 2_C05	GFTFSS YA	323	ISGGGGT T	324	DSGVAF DI	325	QNIRT W	353	DAS	354	QQFK RYPPT	355	6526 9
1139_P0 1_E04	GDSVSS NSAA	326	TYYRSK WYN	327	SWNDA FDI	328	QSIST W	356	DAS	357	QQSY STPLT	358	2378 6
1245_P0 2_F07	GDSVSS NSAA	329	TYYRSK WYN	330	DYYYSM DV	331	QSISS W	359	DAS	360	QQSH SHPPT	361	1045 0
1245_P0 1_G06	GFTFSD YY	332	ISSSGSTI	333	HSWND AFDV	334	QSISS Y	362	AAS	363	QQSY STPDT	364	2247 4

1245_P01_G09	GDSVSS NSAA	335	TYYGSK WYN	336	DYYYSM DV	337	QSIST W	365	DAS	366	QGSY STPVT	367	1843 0
1138_P01_B09	GFTFSD YY	338	ISSSGSTI	339	HSWSD AFDI	340	QDISN Y	368	DAS	369	QGSY STPLT	370	2919 3
1251_P02_G10	GFTFSD YY	341	ISSSGSTI	342	HSWSD AFDI	343	QSISS H	371	AAS	372	QGSY STLLT	373	1705 3
1141_P01_E01	GYSFTS YW	344	IYPGDSD T	345	HQVDTR TADY	346	RSDV GGYN Y	374	EVS	375	SSYTS TSTLV	376	1367 80

EJEMPLO 5: Análisis de anticuerpos mediante SPR

Los anticuerpos IgG preparados se pasaron por un ensayo de fijación a células $\gamma\delta$, y se seleccionaron 5 para una caracterización funcional y biofísica adicional. Se realizó un análisis de SPR para determinar las constantes de disociación de equilibrio (K_D). En la **Figura 3** se presentan sensogramas de la interacción del anticuerpo evaluado con el analito, junto con ajustes de estado estacionario (si están disponibles). No se detectó fijación para TS8,2 con 80 RU de IgG capturadas en el chip. Los resultados se resumen en la **Tabla 9**.

Tabla 9. Resultados de captura de IgG

Analito	Clon ID	K_D (nM)	K_D (M)
L1 (DV1-GV4)	1245_P01_E07	12,4	1,24e-08
L1 (DV1-GV4)	1252_P01_C08	100	1,00e-07
L1 (DV1-GV4)	1245_P02_G04	126	1,26e-07
L1 (DV1-GV4)	1245_P01_B07	341	3,41e-07
L1 (DV1-GV4)	1251_P02_C05	1967*	1,97e-06
L1 (DV1-GV4)	1139_P01_E04	251	2,51e-07
L1 (DV1-GV4)	1245_P02_F07	193	1,93e-07
L1 (DV1-GV4)	1245_P01_G06	264	2,64e-07
L1 (DV1-GV4)	1245_P01_G09	208	2,08e-07
L1 (DV1-GV4)	1138_P01_B09	290	2,90e-07
L1 (DV1-GV4)	1251_P02_G10	829	8,29e-07
L1 (DV1-GV4)	TS8,2 (anticuerpo anti-V δ 1 comercial)	44	4,40e-08

*La fijación de 1252_P02_C05 no alcanzó la saturación, por lo que se extrapolaron los datos

EJEMPLO 6: Ensayo de acoplamiento de TCR

Los inventores diseñaron varios ensayos para la caracterización funcional de los anticuerpos seleccionados. El primer ensayo evaluó el acoplamiento de TCR $\gamma\delta$ al medir la regulación descendente del TCR $\gamma\delta$ tras la fijación del anticuerpo. Se evaluaron anticuerpos seleccionados en comparación con anticuerpos anti-CD3 y anti-V δ 1 comerciales que se usaron como controles positivos o en comparación con 1252_P01_C08 como control positivo (para 1139_P01_E04, 1245_P02_F07, 1245_P01_G06 y 1245_P01_G09). Se usó anti-p $\alpha\gamma\delta$ comercial como control negativo porque es un anticuerpo p $\alpha\gamma\delta$ que reconoce todos los linfocitos T $\gamma\delta$ independientemente de la cadena variable, y, por ende, es probable que tenga un modo diferente de acción.

El ensayo se realizó con linfocitos T $\gamma\delta$ derivados de la piel obtenidos de tres muestras diferentes de donantes (muestras con 94 %, 80 % y 57 % de pureza). Los resultados se muestran en la **Figura 4**. Los valores de EC50 se resumen en la **Tabla 10** a continuación.

EJEMPLO 7: Ensayo de desgranulación de linfocitos T

Un segundo ensayo evaluó la desgranulación de los linfocitos T $\gamma\delta$. Se cree que los linfocitos T $\gamma\delta$ pueden mediar la inactivación de las células diana mediante la activación mediada por perforina-granzima de la apoptosis. Se pueden liberar gránulos líticos dentro del citoplasma del linfocito T $\gamma\delta$ hacia la célula diana tras la activación de los linfocitos T. Por lo tanto, se pueden etiquetar las células diana con anticuerpos contra CD107a y medir la expresión mediante citometría de flujo para identificar los linfocitos T $\gamma\delta$ en proceso de desgranulación.

En lo que respecta al **Ejemplo 6**, se evaluaron anticuerpos seleccionados en comparación con anticuerpos anti-CD3 y anti-V δ 1 comerciales como controles positivos o en comparación con 1252_P01_C08 como control positivo (para 1139_P01_E04, 1245_P02_F07, 1245_P01_G06 y 1245_P01_G09). Se usaron anticuerpos IgG2a, IgG1 y D1,3 como controles negativos. El ensayo se realizó con linfocitos T $\gamma\delta$ derivados de la piel obtenidos de tres muestras diferentes de donantes (muestras con 94 %, 80 % y 57 % de pureza). Los resultados se muestran en la **Figura 5**. Los valores de EC50 se resumen en la **Tabla 10** a continuación.

EJEMPLO 8: Ensayo de inactivación

Un tercer ensayo evaluó la capacidad de los linfocitos T $\gamma\delta$ activados con los anticuerpos

seleccionados para inactivar las células diana.

En lo que respecta al **Ejemplo 6**, se evaluaron anticuerpos seleccionados en comparación con anticuerpos anti-CD3 y anti-V δ 1 comerciales como controles positivos o en comparación con 1252_P01_C08 como control positivo (para 1139_P01_E04, 1245_P02_F07, 1245_P01_G06 y 1245_P01_G09) y anti-p α y δ como control negativo. También se usaron anticuerpos IgG2a, IgG1 y D1,3 como controles de isotipo. El ensayo se realizó con linfocitos T $\gamma\delta$ derivados de la piel obtenidos de dos donantes (94 % y 80 % de pureza) y los resultados se muestran en la **Figura 6**.

Los resultados de los tres ensayos funcionales evaluados en los **Ejemplos 6-8** se resumen en la **Tabla 5**.

Tabla 10. Resumen de los resultados obtenidos en los ensayos funcionales

Clon ID	Regulación descendente de TCR (EC50 μ g/ml – 3 donantes)	Desgranulación de linfocitos T (EC50 μ g/ml – 3 donantes)	Ensayo de inactivación (EC50 μ g/ml – 2 o 3 donantes)
1245_P01_E07	0,04-0,11	0,007-0,004	0,06
1252_P01_C08	0,02-0,03	0,001-0,0006	0,02
1245_P02_G04	0,01-0,05	0,002	0,10
1245_P01_B07	Positiva; 0,35 (solo 1 donante)	Positiva; 0,1 (solo 1 donante)	0,13
1251_P02_C05	Positiva; N/D	Positiva; N/D	N/D*
1139_P01_E04	0,027-0,057	0,005	0,005-0,019
1245_P02_F07	0,032-0,043	0,001-0,002	0,006-0,018
1245_P01_G06	0,042-0,055	0,001	0,007-0,051
1245_P01_G09	0,029-0,040	0,001	0,003-0,008
1138_P01_B09	0,078-0,130	N/D	0,055-0,199
1251_P02_G10	0,849; N/D	N/D	N/D**
OKT3 (anticuerpo anti-CD3)	0,03-0,04	0,001-0,008	0,05

TS8,2 (anticuerpo anti-Vδ1)	0,48-0,8	0,07-0,16	N/D*
---------------------------------------	----------	-----------	------

N/D: no pudo determinarse; N/D*: no pudo determinarse, la curva de titulación no alcanzó una meseta; N/D**: perfil de inactivación reducido, EC50 no establecida

EJEMPLO 9: Mapeo de epítomos

Para determinar el epítipo de complejos de antígeno/anticuerpo con alta resolución, los complejos de proteínas se incubaron con reticuladores deuterados y se sometieron a escisión multienzimática. Después del enriquecimiento de los péptidos reticulados, las muestras se analizaron mediante espectrometría de masas de alta resolución (nLC-LTQ-Orbitrap MS) y los datos generados se analizaron con los *software* XQuest (versión 2.0) y Stavrox (versión 3.6).

Después de la proteólisis de tripsina, quimotripsina, Asp-N, elastasa y termolisina del complejo de proteínas L1(DV1-GV4)/1245_P01_E07 con d0d12 deuterado, el análisis de MS/MS con nLC-orbitrap detectó 13 péptidos reticulados entre L1(DV1-GV4) y el anticuerpo 1245_P01_E07.

Después de la proteólisis de tripsina, quimotripsina, Asp-N, elastasa y termolisina del complejo de proteínas L1(DV1-GV4)/1252_P01_C08 con d0d12 deuterado, el análisis de MS/MS con nLC-orbitrap detectó 5 péptidos reticulados entre L1(DV1-GV4) y el anticuerpo 1252_P01_C08.

Después de la proteólisis de tripsina, quimotripsina, Asp-N, elastasa y termolisina del complejo de proteínas L1(DV1-GV4)/1245_P02_G04 con d0d12 deuterado, el análisis de MS/MS con nLC-orbitrap detectó 20 péptidos reticulados entre L1(DV1-GV4) y el anticuerpo 1245_P02_G04.

Después de la proteólisis de tripsina, quimotripsina, Asp-N, elastasa y termolisina del complejo de proteínas L1(DV1-GV4)/1251_P02_C05 con d0d12 deuterado, el análisis de MS/MS con nLC-orbitrap detectó 5 péptidos reticulados entre L1(DV1-GV4) y el anticuerpo 1251_P02_C05.

También se evaluó la fijación del epítipo con otro anticuerpo, el clon con ID 1141_P01_E01. Después de la proteólisis de tripsina, quimotripsina, Asp-N, elastasa y termolisina del complejo de proteínas L1(DV1-GV4)/1141_P01_E01 con d0d12 deuterado, el análisis de MS/MS con nLC-orbitrap detectó 20 péptidos reticulados entre L1(DV1-GV4) y el anticuerpo

1141_P01_E01.

En la **Tabla 11** se presenta un resumen de los resultados del mapeo de epítomos.

Tabla 11. Resultados del mapeo de epítomos para complejos de antígeno/anticuerpo

Clon ID	Mapeo de epítomos, numeración de aminoácidos de SEQ ID NO: 272
1245_P01_E07	5, 9, 16, 20, 62, 64, 72, 77
1252_P01_C08	50, 53, 59, 62, 64
1245_P02_G04	37, 42, 50, 53, 59, 64, 68, 69, 72, 73, 77
1251_P02_C05	59, 60, 68, 72
1141_P01_E01	3, 5, 9, 10, 12, 16, 17, 62, 64, 68, 69

5 **EJEMPLO 10: Expansión de linfocitos T Vδ1**

Se investigó la expansión de linfocitos T γδ aislados en presencia de anticuerpos seleccionados y anticuerpos comparativos. Se seleccionaron anticuerpos comparativos de los siguientes: Anticuerpo anti-CD3 OKT3 como control positivo, ningún anticuerpo como control negativo o anticuerpo contra IgG1 como control de isotipo. También se evaluaron los anticuerpos anti-Vδ1, TS-1 y TS8,2 disponibles en el comercio a modo comparativo.

Experimento 1:

Se realizó una investigación inicial al sembrar 70.000 células/cavidad con Complete Optimizer y citocinas como se describe en la “Preparación de linfocitos T γδ” para linfocitos T γδ derivados de la sangre del Ejemplo 1. Se evaluaron anticuerpos seleccionados y comparativos a diversas concentraciones de 4,2 pg/ml a 420 ng/ml. Este experimento se realizó con placas de cultivo tisular que permiten la fijación/inmovilización de los anticuerpos al plástico.

Se recolectaron células los días 7, 14 y 18 y se determinó el recuento celular total con un contador de células (NC250, ChemoMetec). Los resultados se muestran en la **Figura 7**. También se midió la viabilidad celular de los linfocitos T Vδ1 en cada recolección y se observó que todos los anticuerpos mantuvieron la viabilidad celular a lo largo de los experimentos (datos no mostrados). El día 18 también se analizaron el porcentaje, el recuento celular y la relación de cambio de los linfocitos T Vδ1. Los resultados se muestran en la **Figura 8**.

Como puede observarse en la **Figura 7**, la cantidad total de células producida en cultivos con anticuerpos aumentó de manera constante a lo largo del cultivo y fue comparable o mejor que

los anticuerpos anti-V δ 1 comerciales. El día 18, la proporción de células V δ 1 positivas en presencia de los anticuerpos 1245_P02_G04 (“G04”), 1245_P01_E07 (“E07”), 1245_P01_B07 (“B07”) y 1252_P01_C08 (“C08”) a la mayoría de las concentraciones evaluadas fue mayor que en los cultivos donde estaban presentes los anticuerpos de control OKT3, TS-1 o TS8,2 (ver la **Figura 8A**).

Experimento 2:

Se realizó un experimento posterior con células aisladas en un recipiente de cultivo con citocinas como se describe en la “Preparación de linfocitos T $\gamma\delta$ ” del Ejemplo 1. En comparación con el Experimento 1, se usó un recipiente de cultivo diferente cuya superficie no facilitaba la fijación/inmovilización del anticuerpo. Se evaluaron anticuerpos seleccionados y comparativos a diversas concentraciones de 42 pg/ml a 42 ng/ml. Durante el Experimento 2, se obtuvieron resultados de experimentos llevados a cabo por triplicado.

Se recolectaron células los días 7, 11, 14 y 17 y se determinó el recuento celular total con un contador de células como antes. Los resultados se muestran en la **Figura 9**. El día 17 también se analizaron el porcentaje, el recuento celular y la relación de cambio de los linfocitos T V δ 1. Los resultados se muestran en la **Figura 10**.

También se midió la composición celular, incluso de células no V δ 1, durante el Experimento 2. El día 17 se recolectaron las células y se las analizó mediante citometría de flujo para determinar la expresión en superficie de V δ 1, V δ 2 y $\alpha\beta$ TCR. Las proporciones de cada tipo celular en cada cultivo se muestran gráficamente en la **Figura 11** y se proporcionan los valores porcentuales en la **Tabla 12**.

Tabla 12. Composición celular el día 17 - Porcentaje de células vivas de cada subconjunto

	$\alpha\beta$ - $\gamma\delta$ -	V δ 1	V δ 2	no V δ 1/V δ 2	$\alpha\beta$
no AB	63,00	18,17	0,86	7,10	0,37
OKT-3	25,63	50,43	0,25	20,13	1,13
IgG1	65,77	15,59	1,11	6,91	0,42
TS8.2 42ng/ml	30,60	53,57	3,59	7,46	0,14
TS-1 42ng/ml	18,77	65,90	0,91	9,51	0,12
C08 42ng/ml	0,79	96,43	0,08	2,51	0,05
C08 4,2ng/ml	1,91	94,67	0,18	2,63	0,05

C08 420pg/ml	8,47	80,57	0,28	8,42	0,04
C08 42pg/ml	35,97	25,93	3,04	19,50	0,31
B07 42ng/ml	0,94	95,57	0,46	2,73	0,05
B07 4,2ng/ml	1,79	94,10	0,40	3,28	0,01
B07 420pg/ml	3,08	91,80	0,29	3,94	0,02
B07 42pg/ml	17,93	62,90	0,85	9,16	0,07
E07 42ng/ml	2,29	85,13	0,19	11,65	0,04
E07 4,2ng/ml	2,15	91,23	0,13	5,77	0,04
E07 420pg/ml	9,25	73,90	0,42	13,05	0,02
E07 42pg/ml	49,23	18,67	2,17	7,70	0,43
G04 42ng/ml	1,90	88,53	0,47	8,09	0,05
G04 4,2ng/ml	4,25	89,67	0,93	3,98	0,02
G04 420pg/ml	25,97	50,60	1,45	12,72	0,11
G04 42pg/ml	44,00	13,77	2,33	26,30	0,32
C05 42ng/ml	25,00	42,03	3,75	13,67	1,32
C05 4,2ng/ml	46,87	22,03	2,58	16,46	0,38
C05 420pg/ml	33,53	44,60	2,23	11,13	0,22
C05 42pg/ml	36,83	25,23	6,16	18,00	0,30

Como puede observarse en estos resultados, la proporción de células Vδ1 positivas es mayor en cultivos con presencia de B07, C08, E07 y G04 en comparación con los controles OKT3, TS-1 o TS8,2. Por lo tanto, los anticuerpos evaluados producen y expanden células Vδ1 positivas con mayor eficacia que los anticuerpos disponibles en el comercio, incluso cuando están presentes a concentraciones bajas en cultivo.

Las células del día 17 del Experimento 2 también se analizaron para detectar marcadores celulares adicionales, incluso CD3-CD56+ para identificar la presencia de células *Natural Killer* (NK) y linfocitos T Vδ1 que expresan CD27 (es decir, CD27+). Los resultados se resumen en la Tabla 13.

Tabla 13. Composición celular el día 17 - Porcentaje de células NK y CD27+

	% de CD56+CD3-		% de CD27+ de V δ 1	
	Media	SEM	Media	SEM
no AB	66,33	8,49	92,43	1,58
OKT-3	7,90	1,04	99,03	0,14
IgG1	70,67	6,41	87,87	0,81
TS8,2 42ng/ml	31,63	1,99	66,73	5,55
TS-1 42ng/ml	22,97	1,75	94,40	1,14
C08 42ng/ml	1,00	0,15	98,17	0,31
C08 4,2ng/ml	2,06	0,07	95,07	1,23
C08 420pg/ml	8,63	1,64	88,43	3,65
C08 42pg/ml	45,10	3,44	91,50	2,50
B07 42ng/ml	1,40	0,39	95,47	1,37
B07 4,2ng/ml	1,70	0,16	96,70	0,43
B07 420pg/ml	3,47	0,38	95,17	0,86
B07 42pg/ml	22,03	4,66	88,03	3,00
E07 42ng/ml	2,59	0,93	92,27	2,10
E07 4,2ng/ml	1,98	0,09	95,77	0,52
E07 420pg/ml	8,72	1,33	92,43	0,14
E07 42pg/ml	67,73	1,23	93,60	1,16
G04 42ng/ml	2,20	0,32	93,80	0,36
G04 4,2ng/ml	3,53	0,51	91,63	1,80
G04 420pg/ml	30,53	5,00	81,37	3,11
G04 42pg/ml	51,13	8,90	94,20	0,93
C05 42ng/ml	37,17	6,53	93,80	0,87
C05 4,2ng/ml	52,27	8,16	85,40	4,46
C05 420pg/ml	37,93	1,57	90,83	2,01
C05 42pg/ml	43,40	8,64	92,17	2,02

SEM: Error estándar de la media

EJEMPLO 11: Funcionalidad de linfocitos T V δ 1

Los linfocitos T V δ 1 expandidos en presencia de los anticuerpos seleccionados retuvieron un repertorio policlonal de regiones CDR3 y también se evaluó su funcionalidad con el ensayo de inactivación de flujo SYTOX. Se presentan los resultados para células obtenidas durante el Experimento 1 en el día 14 con el uso de células en una relación de efector con respecto a diana (E:T) de 10:1 (**Figura 12A**) y para células obtenidas durante el Experimento 2 en el día 17 (después de la congelación-descongelación) con el uso de células a una relación E:T de 1:1 y 10:1 (**Figura 12B**).

Como puede observarse en la **Figura 12**, las células V δ 1 positivas expandidas en presencia de todos los anticuerpos lisaron eficazmente las células diana, lo que indica que son funcionales incluso después de congelar y descongelar las células.

EJEMPLO 12: Funcionalidad de las células después de su almacenamiento

También se investigó la funcionalidad de las células después de una etapa de almacenamiento con congelación y descongelación. Se extrajo una porción de células del cultivo el día 17 del Experimento 2 y se la congeló. Luego, las células se descongelaron y se expandieron adicionalmente en cultivo con IL-15. La **Figura 13** muestra los recuentos celulares totales después de 7 días de cultivar células tras congelación-descongelación para cultivos en contacto con anticuerpos B07, C08, E07, G04 u OKT-3 antes de la congelación. Todos los cultivos mostraron la capacidad de proliferar después de su almacenamiento. Se continuó el cultivo hasta el día 42 y se monitorearon los recuentos celulares totales durante este período (los resultados se muestran en la **Figura 14**). La cantidad total de células se mantuvo o aumentó en los cultivos expuestos previamente a anticuerpos seleccionados.

EJEMPLO 13: Estudios de equivalencia de fijación en anticuerpos anti-V δ 1 modificados

Se realizó un estudio de fijación mediante titulación del antígeno a base de ELISA para comparar el anticuerpo 1245_P02_G04 elaborado en HEK con variantes de secuencia y glicosilación de este elaboradas en CHO. Específicamente, se realizaron modificaciones del marco, el alotipo, la funcionalidad efectora mediada por bisagra, la glicosilación de Asn 297 y/o el método de elaboración y luego se las incluyó en este estudio. La configuración de ELISA del ensayo fue la siguiente: El antígeno comprendía antígeno L1 (TRDV1/TRGV4); amortiguador de bloqueo - 2 % de Marvel/PBS; mAb diluidos en una serie de dilución de 1/2 a partir de 5 μ g/ml; incubación de antígeno-anticuerpo en placas de ELISA – 1 hora; lavar para eliminar la fijación no específica - 3 x PBS-Tween, luego 3 x PBS; anticuerpo secundario

5 empleado - anti-IgG humana etiquetado con DELFIA Eu (PerkinElmer; N.º de cat.: 1244-330; 50 µg/ml) a una dilución de 1/500; luego 1 h de incubación antes de la adición de solución mejoradora de DELFIA (PerkinElmer, usada según las instrucciones); medición mediante fluorometría con resolución temporal (TRF). Para los anticuerpos elaborados en CHO, se prepararon vectores de expresión estándar que contenían casetes de las cadenas pesada y liviana en condiciones de baja endotoxina en función de cromatografía de intercambio aniónico. La concentración de ADN se determinó al medir la absorción a una longitud de onda de 260 nm. Las secuencias se verificaron con secuenciación de Sanger (con hasta dos reacciones de secuenciación por plásmido en función del tamaño del cADN). Se emplearon 10 células CHO K1 adaptadas a la suspensión (originalmente de ATCC y adaptadas a crecer libres de suero en cultivo de suspensión) para la elaboración. Las células semilla se cultivaron en un medio libre de suero y de componentes animales químicamente definido. Las células luego se transfectaron con vectores y reactivo de transfección, y las células se cultivaron adicionalmente. El sobrenadante se recolectó mediante centrifugación y filtración posterior 15 (filtro de 0,2 µm), y el anticuerpo se purificó mediante el uso de MabSelect™ SuRe™ antes de la formulación. Para generar el anticuerpo defucosilado de ejemplo, se introdujeron protocolos descritos por primera vez por von Horsten HH *et al.* (2010) *Glycobiology* 20(12):1607-18 en la plataforma de expresión en CHO descrita anteriormente, antes de la expresión y purificación. Tras la elaboración y purificación, se confirmó la defucosilación de mAb mediante análisis a 20 base de MS.

Los resultados de este estudio se resumen en la **Figura 15**. Allí, el eje y indica la señal de ELISA y el eje x indica las concentraciones (ug/ml) empleadas de antígeno Vδ1. Se indican los anticuerpos incluidos en este estudio de titulación y, para mayor detalle, RSV = control de mAb de control anti-RSV (elaborado en CHO). G04 = 1245_P02_G04 (elaborado en HEK). 25 AD3 = variante G04 (elaborado en CHO). AD4 = AD3 con bisagra modificada (elaborado en CHO). AD3gly = AD3 defucosilado elaborado en CHO diseñada por ingeniería genética. En todas las titulaciones se observó una fijación equivalente al antígeno para todas las variantes.

EJEMPLO 14: Estudios de equivalencia de fijación de anticuerpo anti-Vδ1 en antígeno Vδ1 de la línea germinal humana y una variante polimórfica de este.

30 Se realizó una comparación mediante estudio de fijación a base de ELISA para estudiar la fijación del anticuerpo anti-Vδ1 al antígeno Vδ1 de la línea germinal humana según la base de

datos del IMGT (ver SEQ ID NO: 272) en comparación con la fijación al antígeno Vδ1 de la línea germinal humana polimórfico (SED ID NO: 306). Específicamente, se realizó una comparación de la fijación del anticuerpo y su reactividad cruzada con el antígeno L1 (que contenía una secuencia de la línea germinal TRDV1/TRGV4 canónica) y L1AV (variante TRDV1/TRGV4 que comprendía dicho polimorfismo de la línea germinal TRDV1). Los resultados se presentan en la **Figura 16**. Los anticuerpos indicados son los siguientes: G04 = 1245_P02_G04; G04 LAGA = G04 con modificación de Fc bisagra (L235A, G237A numeración EU). E07 LAGA = 1245_P01_E07 con L235A, G237A. C08 LAGA = 1252_P01_C08 con L235A, G237A, D1,3 = control. Se realizó una dilución en serie de cada anticuerpo con dichos antígenos y, en todas las diluciones, para cada variante de anticuerpo, se observó una fijación equivalente a ambos antígenos. Se muestra la fijación equivalente observada para una dilución de ejemplo (anticuerpo 1 nM) en dicha serie.

EJEMPLO 15: Aumento conferido por la fijación del anticuerpo anti-Vδ1 en la secreción de citocinas de la célula Vδ1+

Sucintamente, todos los anticuerpos se diluyeron hasta 10 µg/ml y se incubaron durante la noche para fijar los anticuerpos a la placa, antes de lavarlos. Se prepararon como se indica en otra parte de la presente linfocitos T γδ derivados de la piel de dos donaciones de piel diferentes (ver el Ejemplo 1; específicamente, la sección sobre la preparación de linfocitos T γδ derivados de la piel). Estas células cutáneas luego se agregaron a placas de cultivo tisular (100.000 células por cavidad) que contenían los anticuerpos fijados indicados. Las células luego se dejaron por un día antes de la recolección del sobrenadante y almacenamiento a -80 °C. Para el análisis de citocinas de los sobrenadantes, se empleó un MSD U-PLEX Human Assay: K151TTK-1, K151UCK-1 (Mesoscale Diagnostics, Maryland). Los anticuerpos empleados en este estudio incluyeron IgG1 (control sin fijación a Vδ1), B07 (1245_P01_B07), E07 (1245_P01_E07), G04 (1245_P02_G04; 1245) y C08 (1252_P01_C08). Los resultados de este estudio se presentan en la **Figura 17**. Específicamente, la **Figura 17 (A)** y **(B)** respectivamente presentan las cantidades de TNF-alfa e IFN-gamma detectadas en el sobrenadante cuando se observan linfocitos T γδ derivados de la piel y niveles mayores cuando se aplican anticuerpos anti-Vδ1.

EJEMPLO 16: Aumento conferido por anticuerpo anti-Vδ1 en los niveles/actividad de granzima B de células Vδ1+

Se prepararon como se indica en otra parte de la presente linfocitos T $\gamma\delta$ derivados de la piel (ver el Ejemplo 1; la sección sobre la preparación de linfocitos T $\gamma\delta$ derivados de la piel). Las células THP-1 se cargaron en primer lugar con una sonda GranToxiLux (un sustrato fluorogénico que penetra las células diseñado para detectar la actividad de granzima B en las células diana) y de acuerdo con las instrucciones del fabricante (OncoImmunin, Inc. Gaithersburg, EE. UU.). Las células THP-1 luego se pulsaron con los anticuerpos indicados en la **Figura 18** a 10 $\mu\text{g/ml}$ antes de su mezcla con los linfocitos T $\gamma\delta$ derivados de la piel a una relación diana/efector de 1:20. Los cocultivos luego se centrifugaron brevemente para garantizar una rápida formación de conjugados antes de un cocultivo durante 1 hora y un posterior análisis de flujo de acuerdo con los protocolos de GranToxiLux. Los anticuerpos empleados en este estudio incluyeron IgG1 (control sin fijación a V δ 1), B07 (1245_P01_B07), E07 (1245_P01_E07), G04 (1245_P02_G04; 1245) y C08 (1252_P01_C08). Los resultados se presentan en la **Figura 18** y resaltan los mayores niveles de granzima B en las células cancerosas diana observados cuando se aplican los anticuerpos anti-V δ 1 indicados a este sistema modelo de cocultivo de V δ 1+/THP-1.

EJEMPLO 17: Modulación y proliferación de células inmunitarias en tejido humano conferidas por anticuerpo anti-V δ 1.

Se incubaron biopsias de punción de piel humana (de cinco donantes diferentes) durante 21 días en cultivo con los anticuerpos indicados. Se prepararon muestras de piel al extraer la grasa subcutánea, etc. como se describe en otra parte de la presente (ver el Ejemplo 1; la sección sobre la preparación de linfocitos T $\gamma\delta$ derivados de la piel). Luego, punciones repetidas de cada donación se colocaron en rejillas de matriz de carbono que luego se colocaron en la cavidad de una G-REX6 (Wilson Wolf). Cada cavidad se cargó con medio completo como también se describe en otra parte de la presente. Para investigar y comparar el efecto de los diferentes anticuerpos, estos se agregaron los días 0, 7, 14 a una concentración de trabajo de 100 ng/ml. Después de 21 días en cultivo, las células se recolectaron y analizaron mediante citometría de flujo. Los resultados de dicho estudio se presentan en la **Figura 19** y resaltan específicamente las diferencias notables en el efecto modulador de los diferentes anticuerpos: Orden de izquierda a derecha: V δ 1 TS8,2 = TS8,2 (Thermo Fisher); OKT-3 (Biolegend); C08 IgG1 =1252_P01_C08; E07 =1245_P01_E07; G04 = 1245_P02_G04. La **Figura 19 (A)** resalta la cantidad media de células pan- $\gamma\delta$ TCR positivas

viables observadas al final del cultivo; los resultados se presentan como una fracción regulada (media de porcentaje + desviación estándar) de la población total de células vivas, según lo analizado mediante citometría de flujo. Para el análisis del contenido de pan- $\gamma\delta$, la estrategia de regulación de flujo es la siguiente: Singuletes > células vivas > anticuerpo Pan- $\gamma\delta$ (Miltenyi, 130-113-508). La **Figura 19 (B)** resalta la cantidad media de células V δ 1+ TCR positivas viables observadas al final del cultivo; los resultados se presentan como una fracción porcentual regulada (media de porcentaje + desviación estándar) de la población total de células vivas, según lo analizado mediante citometría de flujo. Para el análisis del contenido de células V δ 1+, la estrategia de regulación de flujo es la siguiente: Singuletes > células vivas > Pany δ (Miltenyi, 130-113-508) > V δ 1 (Miltenyi, 130-100-553). La **Figura 19 (C)** resalta la cantidad de células doble positivas V δ 1+ CD25+ viables observadas al final del cultivo; los resultados se presentan como una fracción regulada (media de porcentaje + desviación estándar) de la población total de células vivas. Para el análisis del contenido de células CD25+ V δ 1+, la estrategia de regulación de flujo es la siguiente: Singuletes > células vivas > Pany δ (Miltenyi, 130-113-508) > V δ 1 (Miltenyi, 130-100-553) > CD25 (Miltenyi, 130-113-286). Los resultados combinados de este estudio resumen el efecto diferencial de los anticuerpos de la invención como se describen en la presente en comparación con los anticuerpos comparativos TS8,2 y OKT3. Sin limitarse a esta teoría, una razón de los efectos menos favorables conferidos sobre las células V δ 1+ por parte de TS8,2 u OKT3 puede ser el efecto perjudicial conferido por estas moléculas comparativas sobre la función de las células inmunitarias a lo largo del tiempo en este sistema modelo.

EJEMPLO 18: Modulación y proliferación de células inmunitarias en TIL conferidas por anticuerpo anti-V δ 1.

Se realizaron estudios para explorar la modulación y proliferación de linfocitos que infiltran tumores (TIL) humanos conferidas por anticuerpo anti-V δ 1. Para estos estudios, se enviaron biopsias tumorales frescas de carcinoma de células renales (RCC) humano y se las procesó una vez recibidas. Específicamente, el tejido se cortó en $\sim 2\text{mm}^2$. Se colocó hasta 1 g de tejido en cada tubo C de Miltenyi junto con 4,7 ml de RPMI y enzimas del kit de disociación tumoral de Miltenyi a concentraciones recomendadas por el fabricante, además de la enzima R, que se usó a una concentración de 0,2 x para impedir la escisión de las moléculas pertinentes de la superficie celular. Se colocaron tubos C en el gentleMACS™ Octo Dissociator con

calentadores. Se seleccionó el programa 37C_h_TDK_1 para la disociación de los tumores suaves. Lo digerido luego se filtró a través de un filtro de 70 mM para generar una sola suspensión celular. Se agregó RPMI que contenía 10 % de FBS a lo digerido para inactivar la actividad enzimática. Las células se lavan 2 x con RPMI/10 % de FBS y se vuelven a suspender para su recuento. Las células derivadas luego se sembraron en cavidades de TC (G-REX de 24 cavidades, Wilson Wolf) a $2,5 \times 10^6$ por cavidad. Las células luego se incubaron con o sin citocinas y con o sin anticuerpos durante 18 días. Los anticuerpos incluidos en el estudio se detallan en la **Figura 20**. Estos incluyen OKT3 (hasta 50 ng/ml) y 1252_P01_C08, es decir, "C08" en la presente (hasta 500 ng/ml). Cuando se los incluye, se agregaron adiciones en bolo de estos anticuerpos los días 0, 7, 11 y 14. Durante dicha incubación, el medio se reemplazó por medio fresco los días 11 y 14. Se realizó un análisis de citometría de flujo el día 0 y el día 18 para determinar el fenotipo de los linfocitos y la relación de cambio de la cantidad de células. Las células se regularon primero en células CD45+ vivas y luego de la manera indicada. En los brazos en los que se incluyeron citocinas recombinantes, estas se agregaron de la siguiente manera. Día 0: IL-4, IFN- γ , IL-21, IL-1 β . Se incluyó IL-15 adicional los días 7, 11, 14. Se incluyeron IL-21 e IFN- γ adicionales los días 7 y 14, respectivamente. La **Figura 20 (A)** muestra el aumento en veces de las células de TIL V δ 1+ tras 18 días de cultivo en presencia de C08 o OKT3 con y sin soporte de citocinas (CK) cuando se indica. Estos resultados muestran sustanciales aumentos en veces de los linfocitos TIL V δ 1+ con la aplicación del anticuerpo C08 o el anticuerpo OKT3 comparativo en presencia de citocinas, en comparación con el anticuerpo o las citocinas solos. La **Figura 20 (B)** muestra aumentos de la cantidad total de células V δ 1 después de la recolección. Estos resultados muestran aumentos sustanciales de la cantidad de linfocitos TIL V δ 1+ tras el cultivo con el anticuerpo C08 o el anticuerpo OKT3 comparativo en presencia de citocinas, en comparación con el anticuerpo o las citocinas solos. La **Figura 20 (C)** presenta una estrategia de regulación de ejemplo usada en el análisis de citometría de flujo de las células. A partir de la población viva de células CD45, las células se regularon en linfocitos en función de sus propiedades de dispersión directa y lateral (no se muestra), luego los linfocitos T $\gamma\delta$ se separaron de los linfocitos T $\alpha\beta$ al teñir los receptores de linfocitos T. Finalmente, se determinó la proporción de células V δ 1 dentro de la población total de linfocitos T $\gamma\delta$. Se muestran los datos de ejemplo del día 18 para 2 condiciones indicadas (+/-1252_P01_C08): 64,3 % de las células fueron

CD45+, de esas células CD45+, 53,1 % fueron $\gamma\delta$ +, y, de las células $\gamma\delta$, 89,7 % fueron V δ 1+. La **Figura 20 (D)** presenta un perfil fenotípico de superficie celular de células de TIL V δ 1+ al momento de la recolección. Se observaron mayores niveles de CD69 tras un cultivo con el anticuerpo C08. La **Figura 20 (E)** presenta un análisis de la fracción de linfocitos TIL $\gamma\delta$ negativos, CD8 positivos dentro de la región CD45 positiva viva al momento de la recolección. En resumen, los resultados combinados resaltan los efectos moduladores conferidos por el anticuerpo anti-V δ 1 de la invención descrito en la presente sobre las poblaciones de TIL.

EJEMPLO 19: Mejora conferida por anticuerpo anti-V δ 1 de la citotoxicidad mediada por células V δ 1+ y la citotoxicidad específica de células enfermas.

Se realizaron ensayos y estudios de citotoxicidad/potencia en sistemas modelo que comprendían un tricultivo de células efectoras V δ 1+, células cancerosas monocíticas THP-1 y monocitos primarios sanos +/- anticuerpos anti-V δ 1 (1245_P02_G04; 1245_P01_E07; 1252_P01_C08) descritos en la presente, lo cual incluye controles (no mAb o D1,3) como se indican en la **Figura 21**. Sucintamente, todos los anticuerpos se diluyeron hasta 10 μ g/ml en PBS y se incubaron durante la noche a 4 °C en placas de ensayo de ultraimagen de 384 cavidades (Perkin Elmer) para fijar los anticuerpos a la placa, antes de lavarlos con PBS. Se aislaron monocitos de control sanos de células mononucleares de sangre periférica (PBMC; Lonza) mediante selección negativa con el uso de clasificación de células activadas magnéticamente (MACS; Miltenyi Biotec). Monocitos y células THP-1 (ATCC) cultivadas se tiñeron con los tintes de células vivas CellTrace Violet y CellTrace CFSE [0,5 μ M] respectivamente durante 20 minutos antes de mezclarlos en una relación 1:1. Se separaron linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 derivados de la piel expandidos de matraces de cultivo de tejidos y se los diluyó en serie para generar un rango de relaciones de efector con respecto a diana (E:T) antes de agregarlos a suspensiones celulares de THP1:monocitos. Se sembraron suspensiones celulares en placas de ensayo de 384 cavidades para obtener una densidad de siembra celular final de 1.000 células THP-1 por cavidad, 1.000 monocitos por cavidad, y un rango de linfocitos T $\gamma\delta$ (relación E:T máxima de 60:1). Para determinar la cantidad de células THP-1 vivas y monocitos de control sanos después de 24 horas, se adquirieron imágenes confocales con una plataforma de alto contenido Opera Phenix al capturar nueve campos de visión con un aumento de 10x. Los recuentos de células vivas se cuantificaron en función del tamaño, morfología, textura e intensidad de las tinciones de células vivas. Los resultados se

presentan en la **Figura 21**. La **Figura 21 (A)** presenta las cantidades de células THP-1 y monocitos después de 24 horas en cocultivo triple con linfocitos T $\gamma\delta$ en presencia de los controles o mAb fijados a la placa indicados. Las cantidades de células se calcularon mediante microscopía confocal de alto contenido con formación de imágenes de células vivas.

- 5 La **Figura 21 (B)** presenta una representación de gráfico de barras diseñada para resaltar la ventana entre la inactivación específica de células enfermas y la preservación de células sanas no enfermas en la relación E:T máxima (60:1) después de un cocultivo de 24 horas: Gráfico de barras izquierdo; aumento en veces de la inactivación de células enfermas (THP-1) en comparación con la inactivación de células no enfermas (monocitos humanos primarios).
- 10 Gráfico de barras derecho; mismos datos pero representados como porcentaje de inactivación mejorada en comparación con el control. La **Figura 21 (C)** presenta resultados tabulados que resumen el porcentaje de mejora de la potencia de la inactivación de las células diana THP-1 por parte de los linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en presencia de mAb V δ 1 en comparación con un control no mAb como se calcula a partir de la Figura (A). La **Figura 21 (D)** presenta resultados
- 15 tabulados de los valores de EC50 calculados a partir de la Figura (A) representados como cantidades de linfocitos T $\gamma\delta$ necesarias para conferir 50 % de inactivación de células THP-1. Los resultados y descubrimientos combinados delineados en la **Figura 21** resaltan la capacidad de los anticuerpos descritos en la presente para mejorar la citotoxicidad y la especificidad para células enfermas de las células V δ 1+.

20 **EJEMPLO 20: Mejora conferida por anticuerpo multiespecífico de la citotoxicidad mediada por células efectoras V δ 1+; que se dirigen a un antígeno asociado con una enfermedad centrada en los tejidos.**

- Se realizaron estudios de ensayo de citotoxicidad/potencia para explorar el efecto de los anticuerpos multiespecíficos sobre los cocultivos de células efectoras V δ 1+ y células
- 25 cancerosas A-431. Se sembraron células diana A-431 (EGFR⁺⁺; ATCC) en una placa para imágenes de 384 cavidades (Perkin Elmer) a 1.000 células/cavidad y se las incubó a 37°C durante la noche en DMEM (10 % de FCS). Los anticuerpos y los anticuerpos multiespecíficos indicados se diluyeron hasta 10 μ g/ml y se agregaron a la placa de ensayo (2 μ g/ml de concentración final de ensayo). Se separaron linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 derivados de la piel
- 30 expandidos de matraces de cultivo de tejidos y se los diluyó en serie para obtener un rango de relaciones E:T (relación E:T máxima de 60:1) antes de agregarlos a la placa de ensayo. Las

células A-431 se incubaron con linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en presencia de anticuerpos o controles a 30°C, 5 % de CO₂. Después de 24 horas de incubación, se agregó Hoechst 33342 (ThermoFisher) para teñir las células (2 μ M finales). Para determinar la cantidad de células A-431 vivas, se adquirieron imágenes confocales con una plataforma de alto contenido Opera Phenix al capturar nueve campos de visión con un aumento de 10x. Los recuentos de células vivas se cuantificaron en función del tamaño, morfología, textura e intensidad de las tinciones de células vivas. Estudios de transcurso de tiempo de efector/diana (E:T) para determinar la relación ET en donde 50 % de las células diana se inactivan en sistemas modelo +/- los controles, comparadores, anticuerpos y anticuerpos multiespecíficos indicados. Los resultados se presentan en la **Figura 22**.

En primer lugar, la **Figura 22 (A-D)** presenta resultados de cocultivo de ejemplo en donde se estudiaron cocultivos de V δ 1+/A-431 +/- anticuerpos multiespecíficos que comprendían porciones de fijación biespecífica anti-V δ 1 x anti-TAA (EGFR) en donde el dominio de fijación VL+VH anti-V δ 1 (a la primera diana) estaba combinado con el dominio CH1-CH2-CH3 de una porción de fijación anti-EGFR (a la segunda diana). Los controles y comparadores se emplearon de la manera indicada; de izquierda a derecha: Sin mAb = no se agregó anticuerpo; D1,3 = D1,3 control; D1,3 IgG LAGA = D1,3 + L235A,G237A; D1,3 FS1-67 = D1,3 dominio variable de EGFR con dominio constante de fijación a L235A, G237A; Cetuximab (generado internamente). Más específicamente, la **Figura 22 (A)** presenta los resultados de cocultivos de cinco horas con los controles y comparadores mencionados anteriormente y los siguientes artículos de prueba: C08-LAGA = 1252_P01_C08 con L235A,G237A; C08 FS1-67 = 1252_P01_C08 combinado con dominio de fijación a EGFR que contiene L235A,G237A. La **Figura 22 (B)** presenta datos equivalentes de cocultivos de cinco horas con los controles y comparadores mencionados anteriormente y los siguientes artículos de prueba: G04-LAGA = 1245_P02_G04 con L235A,G237A; G04 FS1-67 = 1245_P02_G04 combinado con dominio de fijación a EGFR que contiene L235A,G237A. La **Figura 22 (C)** presenta datos equivalentes de cocultivos de cinco horas con controles, comparadores y los siguientes artículos de prueba: E07-LAGA = 1245_P01_E07 con L235A,G237A; E07 FS1-67 = 1245_P01_E07 combinado con dominio de fijación a EGFR que contiene L235A,G237A. La **Figura 22 (D)** presenta una tabla que resume el porcentaje de mejora de la citotoxicidad de los linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en presencia de controles, comparadores y artículos de prueba a lo largo de 5, 12 y 24 horas. Se

puede observar una mejora de más de 450 % cuando los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos descritos en la presente se presentan en un formato multiespecífico.

En segundo lugar, la **Figura 22 (E-H)** presenta resultados de ejemplo en donde se estudiaron cocultivos de Vδ1+/A-431 +/- anticuerpos multiespecíficos que comprendían porciones de fijación biespecífica anti-Vδ1 x anti-TAA (EGFR) en donde el dominio de fijación anti-Vδ1 (a la primera diana) comprende un anticuerpo de longitud completa (VH-CH1-CH2-CH3/VL-CL) luego combinado con una porción de fijación a scFv anti-EGFR (a la segunda diana). Los controles y comparadores se emplearon de la manera indicada; de izquierda a derecha: Sin mAb = no se agregó anticuerpo; D1,3 = control; D1,3 IgG LAGA = D1,3 + L235A,G237A; D1,3 LAGA cetuximab = D1,3 con L235A, G237A más un scFv derivado de cetuximab del terminal C; cetuximab (generado internamente). Más específicamente, la **Figura 22 (E)** presenta cocultivos de cinco horas con los controles y comparadores mencionados anteriormente y los siguientes artículos de prueba: C08-LAGA = 1252_P01_C08 con L235A,G237A; C08 LAGA cetuximab = 1252_P01_C08 con L235A,G237A y con scFv derivado de cetuximab del terminal C. La **Figura 22 (F)** presenta un cultivo de cinco horas con los controles y comparadores mencionados anteriormente y los siguientes artículos de prueba: G04-LAGA = 1245_P02_G04 con L235A,G237A; G04 LAGA cetuximab = 1245_P02_G04 con L235A,G237A y con scFv derivado de cetuximab del terminal C. La **Figura 22 (G)** presenta un cultivo de cinco horas con controles, comparadores y los siguientes artículos de prueba: E07-LAGA = 1245_P01_E07 con L235A,G237A; E07 LAGA Cetuximab = 1245_P01_E07 con L235A,G237A y con scFv derivado de cetuximab del terminal C. La **Figura 22 (H)** presenta una tabla que resume el porcentaje de mejora de la potencia de los linfocitos T γδ Vδ1 en presencia de controles, comparadores y artículos de prueba a lo largo de 5, 12 y 24 horas. Se puede observar una mejora de más de 300 % cuando los anticuerpos o fragmentos de fijación al antígeno de estos descritos en la presente se presentan en un formato multiespecífico.

En tercer lugar, la **Figura 22 (I y J)** presentan un enfoque alternativo de ejemplo para representar los datos. Se muestra específicamente la mejora de porcentaje conferida por anticuerpos multiespecíficos E07 FS1-67 (**I**) o C08 FS1-67 (**J**) sobre citotoxicidad de células efectoras Vδ1+ hacia células EGFR+ en el punto temporal de 24 horas con respecto a todas las partes componentes y comparadores como se indica.

EJEMPLO 21: Mejora conferida por anticuerpo multiespecífico de la citotoxicidad

mediada por V δ 1+ y la citotoxicidad específica de células enfermas; direccionamiento a un antígeno asociado con una enfermedad centrada en la hematopoyesis.

Se realizaron estudios y ensayos de citotoxicidad/potencia en sistemas modelo que comprendían un tricultivo de células efectoras V δ 1+, células cancerosas Raji y monocitos primarios sanos +/- anticuerpos multiespecíficos que comprendían anticuerpo multiespecífico anti-V δ 1 x anti-TAA (CD19) para determinar si los anticuerpos monoclonales V δ 1 ligados al antígeno asociado a tumor (TAA) en un formato biespecífico pueden mejorar la inactivación de células diana específicas por parte de los linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1. Específicamente, se incubaron células Raji (CD19++; ATCC) con linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en presencia de anticuerpos multiespecíficos V δ 1 x CD19. Todos los anticuerpos se diluyeron hasta 4 μ g/ml (concentración final de ensayo de 1 μ g/ml) y se agregaron a una placa para imágenes de 384 cavidades (Perkin Elmer). Se separaron linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 derivados de la piel expandidos de matraces de cultivo de tejidos y se los diluyó en serie para obtener un rango de relaciones de efector con respecto a diana (E:T). Las células Raji se tiñeron con CellTrace Far Red [0,5 μ M] antes de mezclarlas en una relación 1:1 con linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 titulados. Se sembraron suspensiones celulares en placas de ensayo de 384 cavidades para obtener una densidad de siembra celular final de 1.000 células Raji por cavidad, y un rango de linfocitos T $\gamma\delta$ (relación E:T máxima de 30:1). Para determinar la cantidad de células Raji vivas después de 24 horas, se adquirieron imágenes confocales con una plataforma de alto contenido Opera Phenix al capturar nueve campos de visión con un aumento de 10x. Los recuentos de células vivas se cuantificaron en función del tamaño, morfología, textura e intensidad de las tinciones de células vivas. Los resultados se capturan en la **Figura 23**. Los anticuerpos y comparadores allí empleados son los indicados. Específicamente, RSV IgG = control sin fijación de motavizumab, G04 = 1245_P02_G04; E07= 1245_P01_E07; D1,3 VHVL = D1,3 HEL con scFv anti-CD19 del terminal C de la cadena pesada (en SEQ ID NO: 314 se puede ver el módulo de fijación a scFv empleado); G04 VHVL = 1245_P02_G04 LAGA con scFv anti-CD19 del terminal C de la cadena pesada (SEQ ID NO: 315 o SEQ ID NO: 421 y SEQ ID NO: 422); E07 VHVL = 1245_P01_E07 LAGA con scFv anti-CD19 del terminal C de la cadena pesada (SEQ ID NO: 316, SEQ ID NO: 423 y SEQ ID NO: 424). **Figura 23 (A)** Tabla que resume (i) las EC50 calculadas representadas como cantidades de linfocitos T $\gamma\delta$ T o relaciones E:T necesarias para inducir 50 % de inactivación de células Raji, y (ii) mejora porcentual de las

EC50 en comparación con la ausencia de control de mAb. **Figura 23 (B)** Gráfico de barras que representa la mejora porcentual de la capacidad de los linfocitos T $\gamma\delta$ para lisar 50 % de las células Raji diana en presencia de anticuerpos multiespecíficos V δ 1-CD19.

EJEMPLO 22: Expresión en mamíferos

- 5 Se seleccionaron dos clones para la maduración de afinidad. La preparación y caracterización de clones con maduración de afinidad derivados del clon ADT1-4 (G04) y el clon ADT1-7 (E07) se presentarán a continuación.

Maduración de afinidad de anticuerpos monoclonales anti-V δ 1 humanos

- 10 La expresión en fago empleada para generar anticuerpos parentales antiV δ 1 monoclonales produjo anticuerpos con la afinidad que varía de 12 nM-1 μ M, como se describe anteriormente. El clon de anticuerpos parentales ADT1-4 (G04) y el clon ADT1-7 (E07) se maduraron por afinidad in vitro para lograr sorprendentemente 100 veces de afinidad mejorada para acoplamiento de la diana superior. La maduración de afinidad in vitro de anticuerpos parentales se logró a través de un proceso de dos etapas: diversificación de la
15 secuencia de anticuerpos parentales mediante el uso de mutagénesis de CDR3 dirigida y luego enriquecimiento selectivo de los anticuerpos mejorados de afinidad con plataformas de expresión en fago y en mamíferos. Las colecciones de VH y VL CDR3 2-mer para los clones ADT1-4 y ADT1-7 se crearon mediante el uso de mutagénesis Kunkel (Kunkel *et al.*, 1987; Sidhu y Weiss, 2004) y amplificación por RCA. Las combinaciones de todas las sustituciones
20 de aminoácidos simples y dobles en las posiciones especificadas en las CDR3 VH y VL se incorporaron con la tecnología de síntesis de cebador Agilent. Se especificó la cantidad de aminoácidos diferentes a incorporar en una posición particular. Se omitieron la cisteína y metionina. Los cambios realizados en las CDR de los clones se resumen a continuación en la Tabla 14.

- 25 Tabla 14. Posiciones de CDR3 y cambios de residuos especificados

E07 (V3-11/Vκ1-39)	POS	AMINOÁCIDOS	POS	AMINOÁCIDOS
	V	A,D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,S,T,W,Y	Q	A,D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,R,S,T,V,W,Y
	D	A,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,S,T,V,W,Y	S	A,D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,T,V,W,Y
	Y	A,D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,S,T,V,W	Y	A,D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,S,T,V,W
	A	D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,S,T,V,W,Y	S	A,D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,T,V,W,Y
	D	A,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,S,T,V,W,Y	T	A,D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,S,V,W,Y
	A	D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,S,T,V,W,Y	L	A,D,E,F,G,H,I,K,N,P,Q,R,S,T,V,W,Y
	F	A,G,H,I,L,N,P,S,T,V,Y	L	A,D,E,F,G,H,I,K,N,P,Q,R,S,T,V,W,Y
	D	A,G,N,S,T	R'	A,G,Q,S,T,V
	I	G,S,V,Y		
G04 (VH6-1/Vκ1-5)	POS	AMINOÁCIDOS	POS	AMINOÁCIDOS
	T	A,D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,S,V,W,Y	S	A,D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,T,V,W,Y
	W	A,D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,S,T,V,Y	Y	A,D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,S,T,V,W
	S	A,D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,T,V,W,Y	S	A,D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,T,V,W,Y
	G	A,D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,S,T,V,W,Y	T	A,D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,S,V,W,Y
	Y	A,D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,S,T,V,W	P	A,D,E,F,G,H,I,K,L,N,Q,R,S,T,V,W,Y
	V	A,F,G,H,I,L,N,P,S,T,Y	Q	A,D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,R,S,T,V,W,Y
	D	A,G,N,S,T	V	A,D,E,F,G,H,I,K,L,N,P,Q,R,S,T,V,W,Y
	V	G,I,S,Y	Q'	A,G,R,S,T,V

El tamaño de cada colección se muestra en la Tabla 15.

Tabla 15. Tamaño de colección

ADT1-7	5,4 x10 ⁹
ADT1-4	5,5 x10 ⁹

5 Generación de colecciones de CDR3 VH y VL mutagenizadas

Las colecciones mutagenizadas se prepararon a partir de volúmenes de cultivos adecuados que cubren un exceso adecuado miembros de colecciones. La maduración de afinidad se realizó con la tecnología de expresión en fago como se describe en Schofield *et al.* (2007) con la selección de expresión en solución. Las selecciones se realizaron en las soluciones con el antígeno humano y de *Macaca fascicularis* (antígeno humano que incluía la secuencia de TRDV1 humana, antígeno de *Macaca fascicularis* que incluye SEQ ID NO: 308 menos líder).

Para aislar los aglutinantes de una colección mutante con afinidades más altas, se controló la concentración de antígenos para obtener una serie de selecciones cada vez más estrictos. Se realizaron diversas rondas de selecciones de expresiones en fago con antígeno humano y de *Macaca fascicularis* para cada clon como se presenta en la Figura 24. Para el linaje ADT1-4, la concentración de antígeno utilizada en la selección varió de 100 nM-10 pM para el antígeno humano y 100 nM y 10 nM para el antígeno de *Macaca fascicularis*. Para el linaje ADT1-7, el antígeno humano se usó a concentración de 10 nM a 1 pM y para *Macaca fascicularis* de 100 nM a 100 pM. La Figura 24 muestra las rondas de selección de fagos para la colección

ADT1-7 (iA), la colección ADT1-4 (iB) y la colección ADT1-7 con una estrategia de selección para aislar aglutinantes de reactividad cruzada de *Macaca fascicularis* (iC).

Se usó ELISA de fago policlonal para evaluar el progreso de las selecciones. Antígeno humano (DV1/GV4) y antígeno de *Macaca fascicularis* (DV1/GV76) se revistieron durante la noche a 150 ng/cavidad, 50 µl/cavidad. Se usaron antígeno de *Macaca fascicularis* DV2/GV76 (que no contiene SEQ ID: 308) y HSA como controles. Solo los resultados de la colección ADT4-1 reactivaron de forma cruzada al antígeno DV1 humano y de *Macaca fascicularis*. El resultado de ADT1-7 solo fue reactivo al antígeno humano. Los resultados seleccionados se caracterizaron adicionalmente mediante ELISA de fago monoclonal y el resumen se presenta en la Tabla 16. Los recuadros gris claro y oscuro indican que la selección se llevó a cabo con antígeno humano y de *Macaca fascicularis*, respectivamente. Las flechas proporcionan una indicación respecto al porcentaje de clones que se clasifican como aglutinantes para VD1 humano o de *Macaca fascicularis* (si apunta hacia arriba es alto y si apunta hacia abajo es bajo).

Tabla 16. Resumen de ELISA de fago monoclonal

G04	rondas de fagos			fijación	
selección	#1	#2	#3	huDV1	cyDV1
2378	10nM	1nM		↑ 79%	↘ 25%
2409			100pM	↑ 75%	↑ 100%
2412			10nM	↘ 72%	↑ 100%
2413		10nM	1nM	↑ 84%	↑ 100%
2385	100nM	10nM		↘ 71%	↑ 75%
2418			1nM	↑ 100%	↑ 94%
2420			1nM	↑ 94%	↑ 94%
2415		10nM	10nM	↑ 100%	↑ 94%

E07	rondas de fagos				
selección	#1	#2	#3	huDV1	cyDV1
2370	1nM	100pM		↑ 96%	↓ 0%
2404			10pM	↑ 83%	↓ 0%

La diversidad de secuencia se resume en la Tabla 17. Los recuadros gris claro y oscuro indican que la selección se llevó a cabo con antígeno humano y de *Macaca fascicularis*, respectivamente. Las flechas proporcionan una indicación respecto al nivel de diversidad (si apunta hacia arriba es alto y si apunta hacia abajo es bajo).

Tabla 17. Resumen de secuencia monoclonal en fago

G04	rondas de fagos			diversidad		
selección	#1	#2	#3	CDR3 pesada	CDR3 liviana	CDR3 pesada-liviana
2378	10nM	1nM		↑ 83%	↑ 96%	↑ 100%
2409			100pM	↘ 50%	↘ 53%	↗ 72%
2412			10nM	↘ 63%	↑ 97%	↑ 97%
2413		10nM	1nM	↗ 71%	↑ 97%	↑ 100%
2385	100nM	10nM		↑ 83%	↑ 88%	↑ 100%
2418			1nM	↗ 66%	↗ 81%	↑ 88%
2420			1nM	↘ 63%	↗ 73%	↗ 80%
2415		10nM	10nM	↘ 63%	↗ 78%	↑ 88%

E07	rondas de fagos			CDR3 pesada	CDR3 liviana	CDR3 pesada-liviana
selección	#1	#2	#3			
2370	1nM	100pM		↑ 88%	↑ 96%	↑ 100%
2404			10pM	↗ 75%	↗ 67%	↑ 96%

10 Generación de colecciones de expresión en mamíferos de IgG

Para formar colecciones finales para expresión en mamíferos se recolectaron las siguientes selecciones de ADT1-4:

- SEL2409, 2412 y 2413 para crear la colección 1 de ADT1-4 (humana)
- SEL 2418, 2420 y 2415 para crear la colección 2 de ADT1-4 (de *Macaca fascicularis*)
- SEL2370 y 2404 para crear la colección ADT1-7.

Los recuentos luego se avanzaron a la expresión en mamíferos. Las poblaciones de anticuerpos de fragmento variable monocatenario (scFvs) se convirtieron *en masse* en el formato IgG, lo que mantuvo el emparejamiento original de cadena variable pesada (VH) y cadena variable liviana (VL). Luego, los anticuerpos con formato IgG se clonaron en un vector

donante de expresión en mamíferos que se cotransfectó con plásmidos que codifican un par de nucleasa TALE para permitir la integración génica de anticuerpos dirigidos a nucleasa en un único locus cromosómico. Se creó una colección de anticuerpos de expresión en mamíferos que cubre la diversidad de resultado de expresión (clones $>10^6$) en células HEK293. Las poblaciones estables de células que expresan anticuerpos en la superficie celular se seleccionaron mediante adición de blasticidina 2 días después de la transfección (dpt). Las células que expresan anticuerpos en la superficie celular se enriquecieron mediante clasificación magnética activada de células (MACS) (7 dpt); las células se etiquetaron con anti-Fc-PE seguido de microesferas anti-PE y clasificadas con imán Midi MACS (Miltyen

5 Biotec) y columnas de LS. Estas poblaciones de células se avanzaron a selecciones.

Selección de anticuerpos maduros mediante expresión en mamíferos

Luego de MACS para enriquecer las células que expresan anticuerpos, se adoptaron dos estrategias para identificar aglutinantes TRDV1. La estrategia principal implicó la clasificación de fluorescencia de color dual en función de la expresión de Fc y la fijación al antígeno. La otra clasificación de fluorescencia de color dual en función de la fijación de los antígenos de *Macaca fascicularis* y humanos para maximizar las posibilidades de aislar los aglutinantes de reactividad cruzada de alta afinidad. Un resumen esquemático del proceso se presenta en la Figura 25.

Secuencia, especificidad, clasificación de afinidad y caracterización

El ADN genómico se extrajo de ocho poblaciones diferentes separadas. El ADN que codifica las IgG se amplificó y se clonó en un vector de expresión de IgG1 soluble. Se eligió un total de 1472 clones a partir de las 8 selecciones diferentes. El pADN se transfectó en células Expi293. Los sobrenadantes se recolectaron 5 días después de la transfección y la afinidad de anticuerpos expresada se clasificó para la fijación de TRDV1 humana y de *Macaca fascicularis* en un ELISA de captura. Un total de 93 anticuerpos anti-DV1 de cada cadena de selección se eligieron para análisis de secuencia y de constante SPR. Además, estos clones se controlaron mediante ELISA directo para detectar la fijación a: TRDV1 humana, TRDV1 humana polimórfica (A ->V), TRDV2 humana, TRDV1 de *Macaca fascicularis* y BSA.

EJEMPLO 23: AFINIDAD DE FIJACIÓN A ANTÍGENOS HUMANOS Y DE MACACA FASCICULARIS

Fijación a antígeno recombinante y TCR V δ 1 expresado en células: Linaje ADT1-4

Los estudios se realizaron para explorar la fijación de anticuerpos antiV δ 1 a sus antígenos diana. La fijación de mAb anti-V δ 1 a antígeno de TCR V δ 1 se evaluó mediante ELISA. 1 ug de antígeno humano o 1 ug de antígeno de *Macaca fascicularis* se inmovilizó por cavidad sobre placas de inmunoensayo de 96 cavidades (SLS N.º 475904) y luego se bloqueó con BSA para evitar la fijación no específica. Se agregaron 1,3 pmol (20 ng) de cada mAb y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente. La fijación de mAb al antígeno se detectó con ProteinA-HRP (Abcam N.º Ab7456) junto con el sustrato TMB (Fisher N.º 12750000) y la solución de detención (Biolegend N.º 423001) al medir la absorbancia a 450 nM. Los controles parentales se incluyeron como controles positivos tanto para la variabilidad de ensayo como para la variabilidad interplaca. Los resultados positivos se identificaron como aquellos mAbs que dan lectura de absorbancia por encima de aquellos de los mAbs parentales. **La Figura 28A** muestra el aumento de plegamiento en la absorbancia para los clones ADT1-4 maduros en comparación con la absorbancia de fijación a ADT1-4 parental cuando se fijaron a 1,3 pmol de anticuerpo al antígeno V δ 1 humano. **La Figura 28B** muestra el aumento de plegamiento en la absorbancia para los clones ADT1-4 maduros en comparación con la absorbancia de fijación a ADT1-4 parental cuando se fijaron a 1,3 pmol de anticuerpo al antígeno V δ 1 humano.

Se evaluó la fijación de mAb a TCR V δ 1 endógeno mediante citometría de flujo. Las células V δ 1 de piel (donante ATS006; ADT expandido E0000113) o la línea celular V δ 1 PEER se sembraron a 3×10^5 células/cavidad en placas de fondo redondo de 96 cavidades y se volvió a suspender en 50 ul de amortiguador FACS (v/v: 2 % de FCS, 0,1 % de NaAzide y 1 mM de EDTA en PBS) que contiene 3 ug/ml de mAb de prueba durante 15 min a 4 °C. Las células se convirtieron en pélets y el anticuerpo secundario anti-hmIgG-APC (Miltenyi N.º 130-119-772) se agregó a 1/100 en amortiguador FACS y se incubó durante 20 min más a 4 °C. Las células se lavaron y fijaron en CellFix (BD N.º 340181) y se analizaron mediante citometría de flujo. Se calculó el % de fenotipo V δ 1 e intensidad de fluorescencia media (Inivai Technologies, Flowlogicv7.2). Como un control positivo se incluyó el anticuerpo parental. **La Figura 28C** muestra el aumento de plegamiento en la intensidad de fluorescencia media para los clones ADT1-4 maduros en comparación con ADT1-4 parental que fija las células V δ 1 humanas derivadas de la piel primarias. **La Figura 28D** muestra el aumento de plegamiento en la intensidad de fluorescencia media para los clones ADT1-4 maduros en comparación con

ADT1-4 parental que fija la línea celular V δ 1 PEER transformada.

Fijación a antígeno recombinante y TCR V δ 1 expresado en células: Linaje ADT1-7:

Los estudios se realizaron para explorar la fijación de anticuerpos anti-V δ 1 ADT1-7 maduro a sus antígenos diana. La fijación de mAbs anti-V δ 1 al antígeno de TCR V δ 1 se evaluó mediante ELISA. 1 ug de antígeno humano se inmovilizó por cavidad sobre placas de inmunoensayo de 96 cavidades (SLS N.º 475904) y luego se bloqueó con BSA para evitar la fijación no específica. Se agregó una titulación de 6,7 pmol (100 ng), 1,3 pmol (20 ng) y 0,27 pmol (4 ng) de mAb y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. La fijación de mAb al antígeno se detectó con ProteinA-HRP (Abcam N.º Ab7456) junto con el sustrato TMB (Fisher N.º 12750000) y la solución de detención (Biologend N.º 423001) al medir la absorbancia a 450 nM. Los controles parentales se incluyeron como controles positivos tanto para la variabilidad de ensayo como para la variabilidad interplaca. Los resultados positivos se identificaron como aquellos mAbs que dan lectura de absorbancia por encima de aquellos de los mAbs parentales. **La Figura 29A** muestra el aumento de plegamiento en la absorbancia para los clones ADT1-4 maduros en comparación con la absorbancia de fijación a ADT1-4 parental cuando se fijaron a 1,3 pmol de anticuerpo al antígeno V δ 1 humano.

Se evaluó la fijación de mAb a TCR V δ 1 endógeno mediante citometría de flujo. Las células V δ 1 de piel (donante ATS006; ADT expandido E0000113) o la línea celular V δ 1 PEER se sembraron a 3×10^5 células/cavidad en placas de fondo redondo de 96 cavidades y se volvió a suspender en 50 ul de amortiguador FACS (v/v: 2 % de FCS, 0,1 % de NaAzide y 1 mM de EDTA en PBS) que contiene 3 ug/ml de mAb de prueba durante 15 min a 4 °C. Las células se convirtieron en pélets y el anticuerpo secundario anti-hmIgG-APC (Miltenyi N.º 130-119-772) se agregó a 1/100 en amortiguador FACS y se incubó durante 20 min más a 4 °C. Las células se lavaron y fijaron en CellFix (BD N.º 340181) y se analizaron mediante citometría de flujo. Se calculó el % de fenotipo V δ 1 e intensidad de fluorescencia media (Inivai Technologies, Flowlogicv7.2). Como un control positivo se incluyó el anticuerpo parental. **La Figura 29B** muestra el aumento de plegamiento en la intensidad de fluorescencia media para los clones ADT1-4 maduros en comparación con ADT1-4 parental que fija las células V δ 1 humanas derivadas de la piel primarias. **La Figura 29C** muestra el aumento de plegamiento en la intensidad de fluorescencia media para los clones ADT1-7 maduros en comparación con ADT1-7 parental que fija la línea celular V δ 1 PEER transformada.

Mejoras en el plegamiento sobre los clones parentales

Inmunoensayo de fluorescencia por lantánidos con disociación mejorada (DELFI)

Para confirmar la mejora en la fijación de mAb maduro de afinidad a los antígenos humanos y de *Macaca fascicularis*, se realizó un inmunoensayo DELFIA, en donde el antígeno se colocó directamente sobre la placa a modo de recubrimiento (3 µg/ml de antígeno en 50 µl de PBS) a 4 °C durante la noche (Nunc N.° 437111). Para la detección se usó Anti-IgG humana DELFIA Eu-N1 (Perkin Elmer N.° 1244-330) como anticuerpo secundario a una dilución de 1/500 en 50 µl de 3 % de MPBS (PBS + 3 % (p/V) de leche descremada en polvo). El desarrollo fue con 50 µl de solución mejoradora de DELFIA (Perkin Elmer N.° 4001-0010).

- Se realizó una clasificación por afinidad del anticuerpo de interés con el inmunoensayo DELFIA, en el que los anticuerpos se capturaron mediante proteína G colocada como recubrimiento sobre la placa y se agregó antígeno L1 biotinilado soluble (DV1-GV4) a 0,4 nM y antígeno de *Macaca fascicularis* **DV1/GV77** a 10 nM (3MPBS). Para la detección se usaron 50 µl de estreptavidina-Eu (1:500 en amortiguador de ensayo, Perkin Elmer) y la señal se desarrolló con solución mejoradora de DELFIA. Se usó D1,3 hlgG1 (descrito en England *et al.* (1999) *J. Immunol.* 162: 2129-2136) como un control negativo. Los resultados se muestran en las Figuras 30A a C.

Análisis de SPR - captura de IgG

- El análisis de SPR se utilizó para comparar los valores de KD para los clones con maduración de afinidad en comparación con los clones parentales. Instrumento usado: MASS-2 (Sierra Sensors); Chip: de alta capacidad de amina (Sierra Sensors); amortiguador de corrida PBS + 0,02 % de Tween 20. Los experimentos se realizaron a temperatura ambiente o 37 °C, la proteína G se acopló al chip. Se pasó el antígeno por encima de la célula en una serie de dilución de 50 nM a 0,2 nM para DV1-GV4 humano y de 100 nM a 1 nM para DV1-77 de *Macaca fascicularis*. Asociación de 120 segundos, asociación de 600 segundos, velocidad de flujo de 50 µl/min, regeneración con 10 mM de glicina pH 1,5 de ajuste cinético de acuerdo con fijación de Langmuir 1:1 con el software Sierra Analyzer. Los resultados se muestran en las Figuras 31A a C.

Análisis de afinidad de fijación (KD mediante SPR)

- Afinidad de fijación de anticuerpo contra Vδ1 monoclonal al antígeno Vδ1

La afinidad de fijación de los anticuerpos a la diana (es decir, la cadena Vδ1 de un TCR γδ) se

establece mediante análisis SPR con un instrumento Reichert 4SPR (Reichert Technologies). El anticuerpo (1,5 ug/ml) se recubre sobre un chip sensor de proteína A plana (Reichert Technologies) para obtener un aumento al inicio de aproximadamente 500 uRIU. Se pasó antígeno (por ejemplo, L1 (DV1-GV4) por encima de la célula en una serie de dilución de 1:3 desde 300 nM hasta 3,7 nM con los siguientes parámetros: 180 s de asociación, 600 s de disociación, velocidad de flujo 25 µl/min, amortiguador de corrida PBS + 0,05 % de Tween 20. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente. El ajuste de estado estacionario se determinó de acuerdo con una fijación de Langmuir 1:1 mediante el uso del *software* TraceDrawer (Reichert Technologies).

10 Antígeno humano

Los mAb Vδ1 con maduración de afinidad exhiben afinidad mejorada en gran medida para el antígeno Vδ1 humano que es parental como lo determina el análisis de resonancia de plasmones superficiales (SPR) (Figura 32). **(A, B)** El análisis de resonancia de plasmones superficiales (SPR) se realizó con los mAb parentales ADT1-4 **(A)** o ADT1-7 **(B)** y sus derivados con maduración de afinidad para determinar la afinidad de fijación al antígeno Vδ1 humano. La interacción de fijación de Vδ1 y los mAb con maduración de afinidad se modelaron de acuerdo con la fijación Langmuir 1:1. **(C,D)** Tablas que resumen la constante de disociación de equilibrio (KD) de los anticuerpos dirigidos a Vδ1, como se deriva de los sensogramas ilustrados en **(A)** y **(B)**. Los datos se representan como la media de dos réplicas realizadas en dos instrumentos de SPR diferentes. **(E,F)** Gráficos de barras que representan el aumento en el plegamiento en la constante de disociación de equilibrio (KD) del derivado con maduración de afinidad al antígeno Vδ1, en comparación con su parental, ADT1-4 o ADT1-7.

Conclusiones: Estos datos demuestran que los derivados con maduración de afinidad de ADT1-4 y ADT1-7 demuestran una afinidad significativamente mayor de antígeno Vδ1 humano que los anticuerpos parentales.

Antígeno de *Macaca fascicularis*

El análisis de resonancia de plasmones superficiales demuestra que los mAb Vδ1 con maduración de afinidad del linaje ADT1-4 muestran una afinidad significativamente mayor al antígeno Vδ1 de *Macaca fascicularis* que el anticuerpo parental (Figura 33). **(A)** El análisis de resonancia de plasmones superficiales (SPR) se realizó con anticuerpo parental ADT1-4 y los

derivados con maduración de afinidad para determinar la afinidad de fijación para el antígeno Vδ1. La interacción de fijación de Vδ1 y los mAb con maduración de afinidad se modelaron de acuerdo con la fijación Langmuir 1:1. **(C,D)** Tabla que resume la constante de disociación de equilibrio (KD) de los anticuerpos dirigidos a Vδ1, como se deriva de los sensogramas ilustrados en **(A)**. Los datos se representan como la media de dos réplicas realizadas en dos instrumentos de SPR diferentes. Los resultados se muestran en la Figuras 33A y 33B.

Conclusiones: Estos datos demuestran que los derivados con maduración de afinidad de ADT1-4 demuestran una afinidad significativamente mayor al antígeno Vδ1 de *Macaca fascicularis* que el anticuerpo parental.

Afinidad de fijación a TCR Vδ1 de superficie celular (EC50 para fijación a Vδ1 de superficie celular).

Los mAb Vδ1 con maduración de afinidad exhiben afinidad significativamente mayor para las linfocitos T γδ Vδ1-positivos, sin fijación demostrable a las células que carecen de Vδ1, como se muestra en las Figuras 34A a D. **(A,B)** El nivel de fijación de los mAb Vδ1 para dos donantes de linfocitos T γδ, ATS006 (A) y TS164 (B). Los linfocitos T γδ se tiñeron con concentraciones variables de mAb Vδ1, seguido de anticuerpo de detección de anti-IgG humana fluorescente (xxx). Todas las etapas de incubación se llevaron a cabo a 4 °C y la fijación de mAb se determinó mediante el uso de citometría de flujo para medir el nivel de mediana de fluorescencia. Las curvas de dosis-respuesta de cuatro parámetros logarítmicos se ajustaron mediante el uso de GraphPad Prism 9. **(C)** Gráfico de barras que representa el promedio de IC50 de la fijación de los clones ADT1-4 y ADT1-7 a linfocitos T γδ Vδ1 positivos, representado como la media de dos donantes. **(D)** Tabla que resume los EC50 graficados en **(A)** y **(B)**, y tipos de células Vδ1 negativas que incluyen células HEK293A, Raji y diversos subconjuntos de leucocitos con células mononucleares de sangre primarias. Para linfocitos T γδ Vδ1 positivos, los datos se representan como la media de dos donantes.

Conclusiones: Estos datos demuestran que los derivados con maduración de afinidad de ADT1-4 y ADT1-7 demuestran una afinidad significativamente mayor a linfocitos T γδ antígeno Vδ1 positivos que sus mAb parentales, mientras que no muestran fijación a células Vδ1 negativas HEK293T, Raji o CD8, CD4, NK, CD19 o células monocíticas dentro de las PBMC.

Fijación a célula diana de los anticuerpos Vδ1 monoclonales

Una gama de células diana se sometió a ensayo para determinar la especificidad y afinidad de

la fijación de mAb Vδ1. Esto incluye los linfocitos T γδ Vδ1 derivados de piel expandidos, las células HEK293T, las células Raji y múltiples subconjuntos de leucocitos dentro de las células mononucleares de sangre humana primaria. Las células adherentes o semiadherentes (linfocitos T γδ Vδ1 derivados de la piel, HEK293T) se separaron del matraz de cultivo de tejidos y se volvieron a suspender en PBS. De manera similar, los tipos de células no adherentes (Raji, PBMC), se recolectaron y se volvieron a suspender en PBS. Las células se sembraron a una densidad final de 100.000 células por cavidad en placas de 96 cavidades de fondo en forma de v. Las células se sometieron a centrifugación y los pélets celulares se volvieron a suspender en reactivo de bloqueo de FcR de acuerdo con las instrucciones del fabricante y se incubaron durante 20 minutos a 4 °C antes de un lavado adicional. mAbs Vδ1, control de IgG anti-RSV y OKT3 anti-CD3 se diluyeron hasta 500 nM en PBS y se diluyeron en serie 1:5 en PBS hasta 6,4 pM, y se agregaron a las células, seguido de una incubación de 20 minutos a 4 °C. Para determinar la cantidad de mAb que se fija a la superficie celular, las células se tiñeron con un anticuerpo secundario de IgG antihumano murino, conjugado a APC (dilución: 1:100). Para los linfocitos T γδ Vδ1, HEK293T y Raji, las células también se tiñeron solamente con un tinte de viabilidad. Para PBMC, también se incluyeron los anticuerpos conjugados contra CD4, CD8, CD56, CD11b y CD19 (todos a 1:100), lo que permitió la discriminación de subconjuntos αβ, células NK, linfocitos B y células monocíticas. Tras 20 minutos de incubación a 4 °C, las células se lavaron dos veces y la fluorescencia se midió con el MACSQuant. Las IC50 se muestran en la Figura 34D.

Resumen de valores de KD para linaje ADT1-4 (humano y de *Macaca fascicularis*)

La tabla a continuación proporciona los valores de KD para los 24 clones en el linaje ADT1-4 y el clon parental ADT1-4 (G04) (para su fijación a TRDV1 humano y TRDV1 de *Macaca fascicularis*):

	HUMANO	HUMANO	<i>Macaca fascicularis</i>	<i>Macaca fascicularis</i>
Clon ID	K _D [M]	K _D (nM)	K _D [M]	K _D (nM)
ADT1-4	1,26E-07	126 nM	N/A	N/A
ADT1-4-19	1,63E-10	0,163 nM	3,40E-09	3,40 nM

ADT1-4-21	4,41E-10	0,441 nM	6,79E-09	6,79 nM
ADT1-4-31	5,22E-10	0,522 nM	9,43E-09	9,43 nM
ADT1-4-53	6,08E-10	0,608 nM	5,34E-09	5,34 nM
ADT1-4-2	1,95E-10	0,195 nM	3,08E-09	3,08 nM
ADT1-4-8	5,41E-10	0,541 nM	1,51E-08	15,1 nM
ADT1-4-82	2,49E-10	0,249 nM	1,67E-08	16,7 nM
ADT1-4-83	2,41E-10	0,241 nM	1,58E-08	15,8 nM
ADT1-4-84	2,27E-10	0,227 nM	1,16E-08	11,6 nM
ADT1-4-86	9,39E-10	0,939 nM	9,49E-09	9,49 nM
ADT1-4-95	6,42E-10	0,642 nM	1,50E-08	15,0 nM
ADT1-4-105	3,81E-10	0,381 nM	1,01E-08	10,1 nM
ADT1-4-107	1,77E-10	0,177 nM	1,05E-08	10,5 nM
ADT1-4-110	3,33E-10	0,333 nM	1,19E-08	11,9 nM
ADT1-4-112	7,84E-10	0,784 nM	1,11E-08	11,1 nM
ADT1-4-117	2,45E-10	0,245 nM	1,01E-08	10,1 nM
ADT1-4-139	4,99E-10	0,499 nM	2,69E-08	26,9 nM
ADT1-4-4	5,19E-10	0,519 nM	1,62E-08	16,2 nM
ADT1-4-143	4,63E-10	0,463 nM	9,39E-09	9,39 nM
ADT1-4-173	9,07E-10	0,907 nM	2,40E-08	24,0 nM
ADT1-4-3	9,35E-10	0,935 nM	2,85E-08	28,5 nM
ADT1-4-1	8,00E-11	0,08 nM	4,1E-10	0,41 nM
ADT1-4-6	1,06E-9	1,06 nM	1,01E-9	1,01 nM
ADT1-4-138	4,38E-8	43,8 nM	3,47E-8	34,7 nM

Resumen de valores de KD para linaje ADT1-7 (solo humano)

La tabla a continuación proporciona los valores de KD para los 11 clones en el linaje ADT1-7 y el clon parental ADT1-7 (E07) (para su fijación solo a TRDV1 humano):

Clon ID	K _D [M]	K _D (nM)
---------	--------------------	---------------------

ADT1-7	1,24e-08	12,4 nM
ADT1-7-10	1,30E-09	1,30 nM
ADT1-7-15	1,42E-09	1,42 nM
ADT1-7-17	1,26E-09	1,26 nM
ADT1-7-18	1,61E-09	1,61 nM
ADT1-7-19	1,19E-09	1,19 nM
ADT1-7-20	1,17E-09	1,17 nM
ADT1-7-22	1,18E-09	1,18 nM
ADT1-7-23	1,29E-09	1,29 nM
ADT1-7-42	1,51E-09	1,51 nM
ADT1-7-3	8,31E-10	0,831 nM
ADT1-7-61	5,57E-10	0,557 nM

Resumen de datos farmacológicos para los miembros preferidos del linaje ADT1-4

	HU MA NO	HU MA NO	<i>Macaca fascicu laris</i>	<i>Macaca fascicu laris</i>	IC50 TCR DR (no THP-1)	IC90 TCR DR (no THP-1)	Inactivaci ón de IC50	Inactivaci ón de IC90
Clon ID	K_D [M]	K_D (nM)	K_D [M]	K_D (nM)				
ADT1-4	1,26 E-07	126 nM	N/A	N/A	38,2*	72,4*	2,603E-08 (26,03 nM)	7,048E-08
ADT1-4-19	1,63 E-10	0,163 nM	3,40E-09	3,40 nM	3,67E-10 (0,367 nM)	1,583E-9 (1,583 nM)	1,12E-09 (1,12 nM)	8,38E-09 (8,38 nM)
ADT1-4-21	4,41 E-10	0,441 nM	6,79E-09	6,79 nM	2,66E-10 (0,266 nM)	8,92E-10 (0,892 nM)	9,4E-10 (0,94 mM)	5,88E-09 (5,88 nM)
ADT1-4-31	5,22 E-10	0,522 nM	9,43E-09	9,43 nM	2,45E-10 (0,245 nM)	1,091E-9 (1,091 nM)	1,63E-09 (1,63 nM)	1,658E-08 (16,58 nM)

		M						)
ADT1-4-53	6,08 E-10	0,608 nM	5,34E-09	5,34 nM	2,54E-10 (0,254 nM)	6,98E-10 (0,698 nM)	1,05E-09 (1,05 nM)	4,23E-09 (4,23 nM)
ADT1-4-2	1,95 E-10	0,195 nM	3,08E-09	3,08 nM	3,1E-10 (0,31 nM)	8,34E-10 (0,834 nM)	8,7E-10 (0,87 nM)	3,12E-09 (3,12 nM)
ADT1-4-86	9,39 E-10	0,939 nM	9,49E-09	9,49 nM	3,07E-10 (0,307 nM)	1,001E-9 (1,001 nM)	1,05E-09 (1,05 nM)	4,3E-09 (4,3 nM)
ADT1-4-112	7,84 E-10	0,784 nM	1,11E-08	11,1 nM	2,95E-10 (0,295 nM)	1,093E-9 (1,093 nM)	9E-10 (0,9 nM)	3,8E-09 (3,8 nM)
ADT1-4-143	4,63 E-10	0,463 nM	9,39E-09	9,39 nM	3,13E-10 (0,313 nM)	8,53E-10 (0,853 nM)	1,78E-09 (1,78 nM)	1,42E-08 (14,2 nM)
ADT1-4-1	8,00 E-11	0,08	4,1E-10	0,41	3,604E-10 (0,3604 nM)	6,702E-10 (0,6702 nM)	1,4E-10 (0,14 nM)	2,8E-10 (0,28 nM)
ADT1-4-6	1,06 E-9	1,06	1,01E-9	1,01	4,796E-10 (0,4796 nM)	1,911E-9 (1,911 nM)	1,4E-10 (0,14 nM)	2E-10 (0,2 nM)
ADT1-4-138	4,38 E-8	43,8	3,47E-8	34,7	8,384E-9 (8,384 nM)	3,83E-8 (38,3 nM)	3,8E-10 (0,38 nM)	6,44E-09 (6,44 nM)

* Los resultados de ADT1-4 no alcanzaron saturación completa en este ensayo, por lo tanto, los datos se extrapolaron

Resumen de datos farmacológicos para los miembros preferidos del linaje ADT1-7

Clon ID	K _D [M]	K _D (nM)	IC ₅₀ TCR DR (no THP-1)	IC ₉₀ TCR DR (no THP-1)	Inactivación de IC ₅₀	Inactivación de IC ₉₀
ADT1-7	1,24e-08	12,4 nM	22,4nM**	139,2 nM**	5,53E-09 (5,53 nM)	7,48E-08 (74,8 nM)
ADT1-	1,17	1,17	1,64E-10	1,036E-9	2,80E-10	2,47E-09

7-20	E-09	nM	(0,164 nM)	(1,036 nM)	(0,28 nM)	(2,47 nM)
ADT1-7-3	8,31 E-10	0,831 nM	1,61E-10 (0,161 nM)	7,90E-10 (0,79 nM)	1,60E-10 (0,16 nM)	1,06E-09 (1,06 nM)
ADT1-7-61	5,57 E-10	0,557 nM	1,73E-10* (0,173 nM)	3,668E-9* (3,67 nM)	4,20E-10 (0,42 nM)	1,66E-08 (16,6 nM)

*Resultado de ensayo para ADT1-7-61 representativo de un donante solamente

** Los resultados de ADT1-7 no alcanzaron saturación completa en este ensayo, por lo tanto, los datos se extrapolaron

EJEMPLO 24. CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL

5 Anticuerpos monoclonales Vδ1 en regulación descendente de TCR

La capacidad de mAb ADT para acoplarse con receptores de linfocitos T γδ y, como resultado, regularlos de forma descendente se evalúa al medir la expresión de TCR. Los linfocitos T γδ de la piel (del donante ATS006 y TS164) se sembraron en una placa de fondo redondo de 96 cavidades a 3×10^5 células/ml en un medio γδ con aumento de la concentración de los mAb de prueba (rango de 0,00067 a 67 nM) o la concentración más alta (67 nM) del control de isotipo correspondiente (hlgG1, RSV), diluido en PBS. Las células se incubaron durante 2 horas en una cámara de CO2 humidificada a 37 °C. Las células se lavaron y se tiñeron para detectar células muertas (Thermo Fisher N.° 15580607) y sus TCR VD1 (Miltenyi N.° 130-117-697) durante 30 minutos a 4 °C. Las células se lavaron en amortiguador de FACS y se volvieron a suspender en Cell Fix (BD sciences N.° 340181) antes de incubarse durante la noche a 4 °C en la oscuridad. El nivel de expresión de TCR VD1, determinado mediante mediana de intensidad de fluorescencia (MFI), se midió mediante citometría de flujo al día siguiente con el MACS Quant Analyzer 16.

Los resultados se muestran en la Figura 35, que muestra los mAb Vδ1 con maduración de afinidad y regula de forma descendente TCR Vδ1 de manera más eficaz que su clon parental y OKT3 en formato de ensayo soluble (A y B). Estos descubrimientos notables resaltan que el enfoque tomado en la presente que involucra el uso de mAb Vδ1 de alta afinidad para regular de manera descendente/activar complejos TCR/CD3 que contienen un receptor de Vδ1 no es solo mucho más selectivo, sino que mucho más eficaz, con respecto a los enfoques de direccionamiento de CD3 convencionales. Cuantificación de la expresión de TCR γδ después de 2 horas de incubación de células γδ con mAb Vδ1 y OKT3 antes de la tinción de TCR Vδ1

con un TCR V δ 1 PE-Vio770. Se adquirió MFI de una tinción V δ 1 mediante citometría de flujo y se calculó a partir de la región TCR positiva antes de calcular % de MFI del MFI de células $\gamma\delta$ sin tratar, TCR positivas. El gráfico superior representa los datos del linaje ADT1-4 y el gráfico inferior representa los datos del linaje ADT1-7. (C) Gráfico de barras que representa los valores de IC50 calculados de (A). (D y E). Gráfico de barras que representa los valores de IC50 en (B) presentados como mejora en el plegamiento a partir del ADT1-4 (izquierda) y ADT1-7 (derecha) parental. (F) Tabla que representa los valores de IC50 (en mM) de (B) con la mejora de porcentaje calculada a partir de los de ADT1-4 (superior) y ADT1-7 (inferior) parentales respectivos. (G) Tabla que representa los valores de IC50 de (B) con la mejora de plegamiento calculada a partir de los de ADT1-4 (superior) y ADT1-7 (inferior) parentales respectivos.

Anticuerpos monoclonales V δ 1 en activación de $\gamma\delta$ medida mediante expresión de CD107a

La capacidad de mAb ADT para acoplarse con células VD1 $\gamma\delta$ y activarlas se evalúa al medir la expresión de CD107a. Los linfocitos T $\gamma\delta$ de la piel (del donante ATS006) se sembraron en una placa de fondo redondo de 96 cavidades a 6×10^5 células/ml en un medio $\gamma\delta$ con células THP-1 (ATCC-TIB-202) a $1,2 \times 10^6$ células/ml y aumento de la concentración de los mAb de prueba (rango de 0,00067 a 67 nM) o la concentración más alta (67 nM) del control de isotipo correspondiente (hIgG1, RSV), diluido en PBS. Las células se incubaron durante 2 horas en una cámara de CO₂ humidificada a 37 °C. Las células se lavaron y se tiñeron para detectar células muertas (Thermo Fisher N.º 15580607), TCR VD1 (Miltenyi N.º 130-117-697) y aCD107a (Miltenyi N.º 130-112-610) durante 30 minutos a 4 °C. Las células se lavaron en amortiguador de FACS antes de incubar durante la noche a 4 °C en la oscuridad. El nivel de expresión de TCR VD1 y CD107a, determinado mediante mediana de intensidad de fluorescencia (MFI), se midió mediante citometría de flujo al día siguiente con el MACS Quant Analyzer 16.

Los resultados se muestran en la Figura 36, que muestra que los mAb V δ 1 con maduración de afinidad inducen la activación solo en presencia de las células diana. (A y B) Cuantificación de la expresión de TCR $\gamma\delta$ (negro) y expresión de CD107a (gris) después de 2 horas de incubación de células $\gamma\delta$ con ADT1-4-2 solamente (superior) y con células THP-1 (inferior) a una relación diana con respecto a efector de 1:2 antes de la tinción de TCR V δ 1 y CD107a

con un TCR -V δ 1 PE-Vio770 y un CD107a-VioBlue, respectivamente. Se adquirió MFI de tinción V δ 1 mediante citometría de flujo y se calculó a partir de la región TCR positiva antes de calcular % de MFI del MFI de células $\gamma\delta$ TCR positivas, sin tratar y no cocultivadas. Se adquirió MFI de tinción de CD107a mediante citometría de flujo y se calculó a partir de la región “NO THP-1” antes de calcular % de MFI del MFI de CD107a de células $\gamma\delta$ sin tratar no cocultivadas. (C y D) Cuantificación de la expresión de TCR $\gamma\delta$ (negro) y expresión de CD107a (gris) después de 2 horas de incubación de células $\gamma\delta$ con ADT1-7-3 solamente (superior) y con células THP-1 (inferior) a una relación diana con respecto a efector de 1:2 antes de la tinción de TCR V δ 1 y CD107a con un TCR -V δ 1 PE-Vio770 y un CD107a-VioBlue, respectivamente. Se adquirió MFI de tinción V δ 1 mediante citometría de flujo y se calculó a partir de la región TCR positiva antes de calcular %MFI del MFI de células $\gamma\delta$ TCR positivas, sin tratar y no cocultivadas. Se adquirió MFI de tinción de CD107a mediante citometría de flujo y se calculó a partir de la región “NO THP-1” antes de calcular % de MFI del MFI de CD107a de células $\gamma\delta$ sin tratar no cocultivadas. (E) Tabla que representa el aumento de porcentaje en expresión de CD107a $\gamma\delta$ a partir de células cocultivadas tratadas con la concentración más alta de mAb V δ 1 en comparación con células $\gamma\delta$ no cocultivadas no tratadas. (F) Tabla que representa el aumento de porcentaje en expresión de CD107a $\gamma\delta$ a partir de células cocultivadas tratadas con la concentración más alta de mAb V δ 1 en comparación con células $\gamma\delta$ no tratadas, cocultivadas y no cocultivadas.

20 **Anticuerpos monoclonales V δ 1 en activación de $\gamma\delta$ medida mediante expresión de CD25**

La capacidad de mAb ADT para acoplarse con células VD1 $\gamma\delta$ y activarlas se evalúa al medir la expresión de CD25. Los linfocitos T $\gamma\delta$ de la piel (del donante ATS006) se sembraron en una placa de fondo redondo de 96 cavidades a 6×10^5 células/ml en un medio $\gamma\delta$ con células THP-1 (ATCC-TIB-202) a $1,2 \times 10^6$ células/ml y aumento de la concentración de los mAb de prueba (rango de 0,00067 a 67nM) o la concentración más alta (67nM) del control de isotipo correspondiente (hIgG1, RSV), diluido en PBS. Las células se incubaron durante 24 horas en una cámara de CO₂ humidificada a 37 °C. Las células se lavaron y se tiñeron para detectar células muertas (Thermo Fisher N.º 15580607), TCR VD1 (Miltenyi N.º 130-117-697) y CD25 (Miltenyi N.º 130-113-280) durante 30 minutos a 4 °C. Las células se lavaron en amortiguador de FACS antes de incubar durante la noche a 4 °C en la oscuridad. El TCR VD1 y el nivel de

expresión de CD107a, determinado mediante mediana de intensidad de fluorescencia (MFI), se midió mediante citometría de flujo al día siguiente con el MACS Quant Analyzer 16.

Los resultados se muestran en la Figura 37, que muestra que los mAb Vδ1 con maduración de afinidad inducen la activación solo en presencia de las células diana. (A y B) Cuantificación de la expresión de TCR γδ (negro) y expresión de CD25 (gris) después de 24 horas de incubación de células γδ con RSV (agregado a 67 nM) y ADT1-4-2 solamente (superior) y con células THP-1 (inferior) a una relación diana con respecto a efector de 1:2 antes de la tinción de TCR Vδ1 y CD25 con un TCR -Vδ1 PE-Vio770 y un α-CD25-VioBlue, respectivamente. Se adquirió MFI de tinción Vδ1 mediante citometría de flujo y se calculó a partir de la región TCR positiva antes de calcular %MFI del MFI de células γδ TCR positivas, sin tratar y no cocultivadas. Se adquirió MFI de tinción de CD25 mediante citometría de flujo y se calculó a partir de la región “NO THP-1” antes de calcular % de MFI del MFI de CD25 de células γδ sin tratar no cocultivadas. (A y B) Cuantificación de la expresión de TCR γδ (negro) y expresión de CD25 (gris) después de 2 horas de incubación de células γδ con RSV (agregado a 67 nM) y ADT1-7-3 solamente (superior) y con células THP-1 (inferior) a una relación diana con respecto a efector de 1:2 antes de la tinción de TCR Vδ1 y CD25 con un TCR -Vδ1 PE-Vio770 y un α-CD25-VioBlue, respectivamente. Se adquirió MFI de tinción Vδ1 mediante citometría de flujo y se calculó a partir de la región TCR positiva antes de calcular % de MFI del MFI de células γδ TCR positivas, sin tratar y no cocultivadas. Se adquirió MFI de tinción de CD25 mediante citometría de flujo y se calculó a partir de la región “NO THP-1” antes de calcular % de MFI del MFI de CD25 de células γδ sin tratar no cocultivadas. (E) Tabla que representa el aumento de porcentaje en expresión de CD25 γδ a partir de células cocultivadas tratadas con la concentración más alta de mAb Vδ1 en comparación con células γδ no cocultivadas no tratadas. (E) Tabla que representa el aumento de porcentaje en expresión de CD25 γδ a partir de células cocultivadas tratadas con la concentración más alta de mAb Vδ1 en comparación con células γδ no cocultivadas no tratadas.

Regulación descendente de *Macaca fascicularis*

Los estudios se realizaron para explorar la capacidad de ADT1-4-2 para fijarse a linfocitos T gamma delta Vδ1 de *Macaca fascicularis* y para inducir su regulación descendente de TCR.

Para estos estudios, los PBMC de *Macaca fascicularis* se recolectaron de sangre fresca y se pusieron en cultivo durante 14 días para expandir linfocitos T γδ. Alternativamente, los

linfocitos T $\alpha\beta$ se agotaron de la población total de PBMC con microesferas magnéticas recubiertas con un anticuerpo anti- $\alpha\beta$ (Clon R73) antes de expandirse *in vitro*. La expansión fue la siguiente, 250.000 células se agregaron por cavidad de una placa de fondo en U de 96 cavidades en medio RPMI-1640 que contenía 10 % de FCS, antibióticos (P/S) y un cóctel de citocinas (IFN γ , IL21, IL4, IL1 β e IL15). Siete días después, las células se enriquecieron con 10 μ l de medio fresco que contiene 10 % de FCS, antibióticos (P/S) y las citocinas IL21 e IL15. Se siguió con el reemplazo de 100 μ l de medio por medio fresco que contenía 10 % de FCS, antibióticos (P/S) e IL15 el día 11. Al día 14, las células se recolectaron y se sometieron al ensayo de regulación descendente de TCR. Este ensayo consiste en mezclas las células con diversas concentraciones de anticuerpos durante 2 horas. Luego del tiempo de incubación, las células se tiñeron para el análisis de citometría de flujo para los siguientes marcadores: CD3, TCR- $\alpha\beta$, TCR- $\gamma\delta$ y VD1. También se incluyó una tinción de célula viva/muerta para discriminar la población viva de células. El análisis de citometría de flujo se realizó al regular la población celular CD3+, TCR- $\gamma\delta$ + y VD1+ y la media de intensidad de fluorescencia de VD1 se midió dentro de la región VD1+. El control de isotipo (anti-RSV) o ningún anticuerpo se usaron como control negativo solo a la concentración más alta. Los datos se normalizaron al control sin ningún anticuerpo. La **Figura 38 (A)** muestra la comparación de la capacidad de ADT1-4-2 y ADT1-4 para acoplar y reducir la expresión de VD1 en linfocitos T $\gamma\delta$ de *Macaca fascicularis*. Los resultados muestran una reducción en respuesta a la dosis de la expresión VD1 tras el tratamiento con ADT1-4-2 (hasta 76 % a 33,3 nM) pero no el anticuerpo ADT1-4. En ese ensayo particular, los linfocitos T $\gamma\delta$ se expandieron a partir de una población agotada de linfocitos T $\alpha\beta$. Se usó un rango de 500 veces de concentración. La **Figura 38 (B)** muestra el porcentaje de expresión en superficie celular de VD1 tras el tratamiento con ADT1-4-2. En este ensayo, la expansión de linfocitos T $\gamma\delta$ fue a partir de toda la población de PBMC. Se usó un rango de 10.000 veces de concentración. Los datos muestran una reducción de respuesta de dosis de expresión celular VD1 en 2 donantes diferentes (AD8170 y AM945BA) como un ejemplo. Se evaluó un total de 4 donantes y se extrajo EC50 individualmente con la función de curva de ajuste no lineal GraphPad Prism. La **Figura 38 (C)** muestra el valor de EC50 individual para diferentes donantes combinados con la desviación media y estándar. La media es $3,83 \pm 2,23$ nM.

Anticuerpos:

CD3-AF700 (BD Bioscience, clon SP34-2, ref: 557917)

TCR- $\alpha\beta$ -AF647 (BioLegend, clon R73, ref: 201116)

TCR- $\gamma\delta$ -BV421 (BioLegend, clon B1, ref: 331218)

VD1-PE (eBioscience, clon TS8,2, ref: 12-5679-42)

- 5 Se llevaron a cabo estudios adicionales con muestras de sangre entera de de *Macaca Fascicularis* (n=5) (ver **Figura 38 (D-G)**). Estas se estimularon durante 20 horas con ADT1-4-2 (0,052 mg/ml para donantes de *Macaca fascicularis* 1-2, o 1 mg/ml para donantes de *Macaca fascicularis* 3-5). Se usaron como control muestras de sangre entera no tratada de cada animal. Se analizaron células mononucleares CD45+ únicas vivas mediante citometría de flujo
- 10 después de la estimulación. Para el análisis de flujo en la **Figura 38 D-G**, los anticuerpos analíticos etiquetados empleados incluyeron: anti-CD3, BV421, SP34-2 BD Biosciences (N.º de categoría 562877), anti-CD45, V500, D058-1283 BD Biosciences (561489), anti-panGD PE-Cy7 B1 BioLegend (N.º de categoría 331222). Los resultados muestran primero en **(D)** que cantidades absolutas de células $\gamma\delta$ + vivas totales permanecieron sin cambios después de la
- 15 estimulación con ADT1-4-2 en comparación con el control no tratado. A pesar de que las cantidades absolutas de linfocitos T $\gamma\delta$ permanecían consistentes, **(E)** luego muestra que en comparación con los controles no estimulados, la expresión en superficie tanto de CD3 **(Ei)** como de TCR pan $\gamma\delta$ **(Eii)** está regulada de manera ascendente en linfocitos T $\gamma\delta$ después de la estimulación con ADT1-4-2, medida mediante una reducción en la intensidad de
- 20 fluorescencia mediana (MFI). Gráficos de flujo representativos del donante 1 de *Macaca fascicularis* se muestran en **(F)** en donde los linfocitos T $\gamma\delta$ se desplazan diagonalmente hacia la porción inferior izquierda del gráfico como expresión en superficie de CD3 y pan $\gamma\delta$ está regulada de manera descendente después de la estimulación con ADT1-4-2, mientras que % general de pan $\gamma\delta$ + permanece similar en ambas condiciones. Finalmente, y en contraste, **(G)**
- 25 muestra que la expresión en superficie de CD45, una molécula no involucrada en la señalización de TCR, no cambia en linfocitos T $\gamma\delta$ después de estimulación con ADT1-4-2. Estos datos críticos ejemplifican la actividad farmacológica de los anticuerpo anti-V δ 1 con maduración de afinidad de reacción cruzada de *Macaca fascicularis* como se describen en la presente en linfocitos T $\gamma\delta$ para *Macaca fascicularis*.

30 **Citotoxicidad mejorada de clones con maduración de afinidad**

La maduración de afinidad de los clones V δ 1 ADT1-4 y ADT1-7 mejora significativamente el

efecto citotóxico de los linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en el ensayo de inactivación de THP-1 *in vitro*

Ensayo de inactivación de células THP-1

Los mAb V δ 1 y el control de IgG anti-RSV se diluyeron a 1 μ g/ml en PBS y se diluyeron en serie 1:10 en PBS antes de agregar a placas de ensayo de ultraimagen de 384 cavidades (Perkin Elmer). Las células THP-1 (ATCC) cultivadas en RPMI, 10 % de FCS (Invitrogen) se tiñeron con el tinte de células vivas CellTrace CFSE [0,5 μ M] durante 20 minutos. Se separaron linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 derivados de la piel expandidos de matraces de cultivo de tejidos y se volvieron a suspender en medio de crecimiento basal antes de mezclar 1:1 con células THP-1 en suspensión. Se sembraron suspensiones celulares en placas de ensayo de 384 cavidades para obtener una densidad de siembra celular final de 1.000 células THP-1 por cavidad y 2.000 linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 por cavidad. Los mAb se diluyeron en los volúmenes de ensayo final a concentraciones que varían de 200 ng/ml a 0,2 pg/ml. Las células THP-1 y los linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 se cultivaron en presencia de mAb V δ 1 a 37 °C, 5 % de CO₂ durante 24 horas. Para determinar la cantidad de células THP-1 vivas después de 24 horas, se adquirieron imágenes confocales con una plataforma de alto contenido Opera Phenix al capturar nueve campos de visión con un aumento de 10x. Los recuentos de células vivas se cuantificaron en función del tamaño, morfología, textura e intensidad de las tinciones de células vivas.

La Figura 39 muestra que los mAb V δ 1 con maduración de afinidad exhiben potencia mejorada en un ensayo de citotoxicidad de THP-1 de alto contenido en comparación con los clones parentales. **(A y B)** Cuantificación de cantidades de linfocitos THP-1 vivos después de 24 horas de cocultivo con linfocitos T $\gamma\delta$ en presencia de mAb V δ 1 o controles [Relación efector:diana 2:1]. Las cantidades de células se normalizaron como un porcentaje del control de linfocitos T no $\gamma\delta$ (100 %). OKT3 (anticuerpo anti-CD3) y un control de isotipo anti-RSV se incluyeron como controles de ensayo. Las cantidades de células se calcularon mediante microscopía confocal de alto contenido en células vivas. Los gráficos son representativos de los clones ADT1-4 **(A)** y ADT1-7 **(B)** parentales. **(C)** Gráfico de barras que representa el promedio de EC50 del control OKT3 y los clones ADT1-4 y ADT1-7. Los datos se representan como media $\pm$ desviación estándar de n=3 replicados biológicos. **(D)** Tabla que resume los EC50 graficados en **(C)**. Los datos se representan como media, desviación estándar, cambio en el plegamiento y mejora en el porcentaje en comparación con los clones parentales ADT1-

4 y ADT1-7.

Anticuerpos monoclonales contra V δ 1 en citotoxicidad celular dependiente del anticuerpo (ADCC).

Se separaron linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 derivados de la piel expandidos de tres donantes de
matraces de cultivo de tejidos y se volvieron a suspender en medio de crecimiento basal y se
sembraron a una densidad final de 20.000 células por cavidad en placas blancas de 96
cavidades. Las células Raji se sembraron de manera similar a 20.000 por cavidad, para usar
como un control positivo para ADCC inducido por el anticuerpo Rituximab dirigido a CD20. Los
mAb se diluyeron y se agregaron a cada cavidad en las concentraciones finales que variaron
de 1 a 100 nM. Se descongelaron las células efectoras del bioensayo Fc γ RIIIa+ ADD y se
agregaron 62,500 células a cada cavidad seguido de incubación a 37 °C, 5 % de CO₂ durante
4,5 horas. El reactivo Bio-Glo que contiene luciferina se agregó a cada cavidad, seguido de
una incubación adicional de 10 minutos y la luminiscencia se midió con un lector de placas.

La Figura 40 muestra que los mAb dirigidos a V δ 1 inducen una citotoxicidad celular
dependiente de los anticuerpos (ADCC) insignificante. ADCC, como se mide con un ensayo
indicador sustituto en el que la señalización de NFAT corriente abajo se mide por inducción de
actividad de luciferasa dentro de las células efectoras Fc γ RIIIa+. Las células efectoras se
cocultivaron con tres donantes de linfocitos T $\gamma\delta$ (Relación efector:diana 3) y diversas
concentraciones de anticuerpo monoclonal. Las células Raji CD20+ y Rituximab se incluyeron
como un control positivo. La bioluminiscencia se midió después de 4,5 horas de cocultivo. Los
datos se representan como media $\pm$ SD de tres replicados biológicos (tres donantes de
linfocitos T $\gamma\delta$).

Conclusiones: Estos datos demuestran que ADT1-4 parental y el derivado con maduración
por afinidad ADT1-4-2 no induce ADCC, que se demuestra a través de la línea celular
indicadora efectora Fc γ RIIIa+ en la que la señalización de NFAT induce la actividad de
luciferasa. Sin embargo, OKT3 parece inducir altos niveles de señalización específica de
ADCC.

Anticuerpos monoclonales V δ 1 en citotoxicidad dependiente del complemento (CDC)

Se separaron linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 derivados de la piel expandidos de matraces de cultivo de
tejidos y se volvieron a suspender en medio de crecimiento basal y se sembraron a una
densidad final de 75.000 células por cavidad en placas blancas de 96 cavidades. Las células

Raji se sembraron de manera similar a 75.000 por cavidad, para usar como un control positivo para CDC inducido por el anticuerpo Rituximab dirigido a CD20. Los mAb se diluyeron y se agregaron a cada cavidad en las concentraciones finales que variaron de 1 a 100 nM. El suero humano, ya sea fresco o inactivado por calor, se agregó a una concentración final de 40 %. La inactivación por calor se realizó al calentar el suero en un baño de agua a 56 °C durante 30 minutos, seguido de enfriamiento en hielo. Los cultivos luego se incubaron a 37 °C, 5 % de CO₂ durante 24 horas. Para determinar las cantidades de células vivas después de 24 horas, las células se recolectaron y se tiñeron con tinte de viabilidad xx en una dilución de 1:1000 durante 20 minutos. La fluorescencia se midió con el MACSQuant y los recuentos de células vivas se cuantificaron en función de la tinción negativa para el tinte de viabilidad.

Los resultados se muestran en la Figura 41, que demuestra que los mAb dirigidos a Vδ1 no inducen la citotoxicidad dependiente de complementos (CDC). La cantidad de linfocitos T γδ viables seguidos de cultivos con 40 % de suero humano y 50 nM de OKT3 anti-CD3 o ADT1-4-2 anti-Vδ1 y diversas concentraciones de anticuerpo monoclonal. El suero se usó fresco o se sometió a inactivación por calor previa. Las células Raji CD20⁺ y Rituximab se incluyeron como un control positivo. La viabilidad se midió después de 24 horas de cocultivo a través de tinte de viabilidad. Los datos se representan como media ± SD de tres replicados.

Conclusiones: Los datos demuestran que ADT1-4-2 no induce citotoxicidad dependiente de complementos (CDC), sin aumento en la citotoxicidad de células Vδ1-positivas en presencia de suero que contiene complementos. Sin embargo, Rituximab muestra fuerte estimulación de CDC contra las células Raji CD20-positivas.

Preservación de células sanas

Los estudios se realizaron para explorar el efecto de estimular/activar las células Vδ1 con anticuerpo anti-Vδ1 con respecto a la citotoxicidad hacia las células sanas. Esto se evaluó al incubar el clon anti-Vδ1 ADT1-4-2 con PBMC y luego evaluar la citotoxicidad y apoptosis de monocitos.

Las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) humana criopreservada obtenidas de 3 donantes sanos. Las PBMC se sembraron en placas de cultivo de tejido de fondo redondo de 96 cavidades a 250.000 células/cavidad en 250 ul de medio completo (RPMI suplementado con 10 % de FCS, pen/estrep, aminoácidos no esenciales, piruvato de sodio y HEPES) con 10 ng/ml de IL15. Un anticuerpo Vδ1 de titulación ADT1-4-2 se agregó a una concentración final

de 6,6 nM. Los anticuerpos RSV IgG, IgG2 α y OKT3 se incluyeron como controles. Las estimulaciones se realizaron durante 20 horas. El análisis de citometría de flujo se realizó en el punto final para determinar el fenotipo de monocito en cada condición y monocitos apoptóticos en células V δ 1. Las células se regularon primero en singuletes vivos, seguido de

5 CD14 (Miltenyi 130-110-523) para identificar monocitos. Los monocitos apoptóticos luego se identificaron a través de tinción positiva ApoTracker Green (Biolegend 427402).

La Figura 42A (panel superior izquierdo) muestra MFI de tinción de TCR V δ 1 tras la estimulación de anticuerpos como una indicación de acoplamiento diana. Las Figuras 42B (panel superior derecho) y xixC (panel inferior) muestra el fenotipo de monocito de finalización

10 y monocitos apoptóticos (respectivamente) seguido a la estimulación de anticuerpos. La estimulación del clon V δ 1 de anticuerpos ADT1-4-2 acopló las células V δ 1 pero no causó citotoxicidad de monocitos sanos.

EJEMPLO 25. EFECTO DE ANTICUERPOS ANTI-V δ 1 SOBRE POBLACIONES DE TIL DE BIOPSIAS DE TUMORES PRIMARIOS.

15 **El anticuerpo anti-V δ 1 promovió activación, proliferación y citotoxicidad en linfocitos que infiltran tumores.**

Se realizaron estudios para explorar la modulación de linfocitos que infiltran tumores (TIL) humanos conferida por anticuerpo anti-V δ 1. Para estos estudios, se enviaron biopsias tumorales frescas de carcinoma de células renales (RCC) humano y se las procesó una vez

20 recibidas. Las biopsias se cortaron en trozos que medían $\sim 2\text{mm}^2$ y se obtuvieron los TIL con una adaptación del método descrito originalmente por Kupper y Clarke (Clarke *et al*, 2006). Específicamente, hasta cuatro biopsias de 2mm^2 se colocaron en matrices de Cellfoam de 9 mm x 9 mm x 1,5 mm y se colocó una matriz por cavidad en una placa de 24 cavidades. Las biopsias luego se cultivaron en 2 ml de medio de Dulbecco modificado de Iscove (IMDM)

25 suplementado con 4 % de plasma humano, β -mercaptoetanol (50 μM), penicilina (100 U/ml), estreptomycin (100 $\mu\text{g/ml}$), anfotericina B (2,5 $\mu\text{g/ml}$), HEPES (10 mM), Na piruvato (1 mM), solución de aminoácidos no esencial MEM (1X) e IL-15 (2 ng/ml, Miltenyi Biotec). Se aspiró 1 ml de medio cada 3-4 días y se reemplazó con 1 ml de medio completo que contiene IL-15 2x concentrado. Los TIL se recolectaron 10 u 11 días más tarde, se pasaron a través de un

30 colador celular de nylon de 70 μM , se centrifugó a 300 xg durante 5 minutos y se volvieron a suspender en medio completo para el recuento. Luego, se colocaron en placas 400.000

células por cavidad en placas de 96 cavidades antes de la estimulación con anticuerpos anti-V δ 1. Los TIL se estimularon con anticuerpos ADT1-4, ADT1-4-2, ADT1-7-3 o control de isotipo RSV IgG1 en presencia de IL-15 a una concentración de 2 o 50 ng/ml.

La **Figura 43 (A y B)** muestra el % de disminución en expresión de TCR V δ 1 en los linfocitos T $\gamma\delta$ que infiltran tumores totales después de 48 (A) o 72 (B) horas de estimulación de mAb en dos donantes separados, lo que confirma el acoplamiento de la diana en cada caso. Se analizó la expresión de CD25 y Ki67 de las células V δ 1⁺ que infiltran tumores. La **Figura 43 (C)** muestra la expresión mejorada de CD25 y Ki67 en linfocitos T V δ 1⁺ después de 48 horas de estimulación con ADT1-4-2 en comparación con estimulación con control de isotipo de IgG1 o ADT1-4. Se analizó la producción de citocina de los sobrenadantes a partir de cultivos de TIL estimulados con mAb mediante MSD. La **Figura 43 (D)** muestra aumentos de plegamiento sustanciales en la producción de IFN- γ mediante TIL estimulados con ADT1-4-2 o ADT1-7-3 durante 72 horas en presencia de 50 ng/ml de IL-15. La **Figura 43 (E)** muestra que la estimulación de TIL con ADT-1-4-2 o ADT1-7-3 no mejoró la secreción de citocinas asociadas al tipo 17 IL-6 o IL-17 en este punto temporal.

Alternativamente, las biopsias de diferentes donantes se digirieron enzimáticamente una vez recibidas para obtener una única suspensión celular. Específicamente, se colocó hasta 1 g de tejido en cada tubo C de Miltenyi junto con 4,7 ml de RPMI y enzimas del kit de disociación tumoral de Miltenyi a concentraciones recomendadas por el fabricante, además de la enzima R, que se usó a una concentración de 0,2X para impedir la escisión de las moléculas pertinentes de la superficie celular. Se colocaron tubos C en el gentleMACS™ Octo Dissociator con bloques calentadores adjuntos. Se seleccionó el programa 37C_h_TDK_1 para la disociación de los tumores pequeños. Después de 1 hora, se filtró lo digerido a través de un filtro de 70 μ M y se agregó IMDM completo que contenía 4 % de plasma humano para inactivar la actividad enzimática. Luego las células se lavaron dos veces y se volvieron a suspender en IMDM completo para el recuento. Según las cantidades de células, 2×10^6 o 4×10^6 células se colocaron en placas por cavidad en placas de 48 cavidades y se estimularon con anticuerpos ADT1-4, ADT1-4-2 o control de isotipo RSV IgG1 en presencia de IL-15 a una concentración de 2 ng/ml. Los TIL aislados por digestión enzimática se analizaron mediante citometría de flujo 24-72 horas después de la estimulación de mAb. La **Figura 43 (F y G)** muestra el % de disminución en expresión de TCR V δ 1 en linfocitos T $\gamma\delta$ que infiltran tumores

totales después de estimulación con mAb en 24 (F) o 72 (G) horas en dos donantes individuales, lo que confirma el acoplamiento de la diana en TIL aislados mediante digestión enzimática. La **Figura 43 (H)** muestra la expresión mejorada dependiente de la dosis de Ki67 en linfocitos T $\gamma\delta$ después de 72 horas de estimulación con ADT1-4-2. Se analizaron los sobrenadantes de cultivos de TIL estimulados con mAb para determinar la producción de citocina mediante MSD. La **Figura 43 (I y J)** muestra el aumento en el plegamiento en IFN- γ producida por TIL aislados a partir de dos donantes individuales mediante digestión enzimática y estimulados con ADT1-4-2 en una concentración de 6,66 nM en presencia de 2 ng/ml de IL-15 en dos puntos temporales, 24 horas (I) y 72 horas (J). En resumen, estos resultados combinados resaltan la capacidad del anticuerpo anti-V δ 1 con maduración de afinidad para impulsar la activación, proliferación y producción de citocinas anti-tumorigénica mediante linfocitos T $\gamma\delta$ que infiltran tumores dentro de las 72 horas de estimulación.

En otro experimento, los TIL derivados de tumor de pulmón se aislaron en matrices de red y estimularon con ADT1-4, ADT1-4-2 o control de isotipo de IgG1 durante 10 días en presencia de 2 ng/ml de IL-15. La **Figura 44 (A)** muestra la expresión mejorada de CD25 y Ki67 en linfocitos T $\gamma\delta$ estimulados durante 10 días con ADT1-4-2. La **Figura 44 (B)** muestra un aumento sustancial en linfocitos T $\gamma\delta$ granzima B⁺ perforina⁺ después de 10 días de estimulación con ADT1-4-2. La estimulación con mAb durante un período de tiempo más largo permitió el análisis de la licencia inmunitaria de linfocitos T $\alpha\beta$ a través de linfocitos T V δ 1⁺ estimulados por anticuerpos anti-V δ 1. La **Figura 44 (C)** muestra expresión considerablemente mejorada de granzima B y perforina por linfocitos T $\alpha\beta$ CD8⁺ y CD8⁻ después de 10 días de estimulación de linfocitos T V δ 1⁺ que infiltran tumores con ADT1-4-2. Se analizaron los sobrenadantes de TIL cultivados durante 10 días con mAb mediante MSD. La **Figura 44 (D)** muestra producción significativamente aumentada de IFN- γ , y producción moderadamente aumentada de IL-17 y IL-6 por TIL derivados de tumor de pulmón después de estimulación con ADT1-4-2. La **Figura 44 (E)** demuestra la producción mejorada de las quimiocinas CCL2, CCL4 y CXCL10 mediante TIL después de 10 días de estimulación con ADT1-4-2. En resumen, estos resultados resaltan la capacidad del anticuerpo anti-V δ 1 para impulsar la activación y citotoxicidad en los linfocitos T $\gamma\delta$ que infiltran tumores, que luego pueden promover la citotoxicidad en los linfocitos T $\alpha\beta$ que infiltran tumores.

EJEMPLO 26. Afinidad de fijación de anticuerpo biespecífico V δ 1-CD19 a V δ 1 humano y

de macaca fascicularis

La afinidad de fijación de los anticuerpos a la diana (es decir, la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$, tanto antígenos humanos como de *Macaca fascicularis*) se establece mediante análisis SPR con un instrumento Reichert 4SPR (Reichert Technologies). El anticuerpo se recubre sobre un chip sensor de proteína A plana (Reichert Technologies) para obtener un aumento al inicio de aproximadamente 500 uRIU. El heterodímero V δ 1 humano recombinante o heterodímero V δ 1 de *Macaca fascicularis* se pasó por encima de la célula. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente. Los resultados se muestran en la Figura 49.

Estos datos demuestran que el anticuerpo biespecífico se fija a V δ 1 humano y de *Macaca fascicularis*.

EJEMPLO 27A. Los anticuerpos biespecíficos V δ 1-CD19 en ensayos de activación y ensayos de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1

Los linfocitos B sanos se aislaron de PBMC (Lonza), con la clasificación de células activadas magnéticas negativas (MACS; MiltenyiBiotec). Se determinó la expresión de CD19 en células NALM-6 cancerosas (ATCC), células Raji (ATCC) y linfocitos B sanos aislados. Sucintamente, se incubaron 5×10^4 células con anticuerpos CD19 (Biolegend) durante 15 minutos a 4 °C antes de lavarlos y fijarlos. La expresión de CD19 se determinó mediante citometría de flujo (MACSQuant10, MiltenyiBiotec). Los resultados se muestran en la Figura 50A.

El efecto de los anticuerpos biespecíficos CD19-V δ 1 sobre la citotoxicidad de células diana CD19⁺ y preservación de células sanas CD19⁺ se determinó con imágenes confocales de alto contenido en el Opera Phenix (Perkin Elmer). Las células NALM-6, Raji y linfocitos B se tiñeron con el tinte de células vivas CellTrace CFSE [0,5 μ M] durante 20 minutos. Los anticuerpos biespecíficos y controles se diluyeron en serie en PBS antes de agregarlos a placas de ensayo de imágenes de 384 cavidades (Perkin Elmer). Se separaron linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 derivados de la piel expandidos de matraces de cultivo de tejidos y se volvieron a suspender en medio de crecimiento basal antes de mezclar 1:1 con células NALM-6, Raji o linfocitos B en suspensión. Se sembraron suspensiones celulares en placas de ensayo de 384 cavidades para obtener una densidad de siembra celular final de 2.000 células NALM-6, Raji y linfocitos B por cavidad, y 2.000 linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1. Las concentraciones finales de anticuerpos de ensayo variaron de 6,6 nM a 66 pM. Las células se cocultivaron durante 24 horas antes de la tinción con DRAQ7 (1:300 final, Abcam). Para determinar las cantidades de

células diana vivas, se adquirieron imágenes confocales con una plataforma de alto contenido Opera Phenix al capturar nueve campos de visión con un aumento de 10x. Los recuentos de células vivas se cuantificaron en función del tamaño, morfología, textura e intensidad de la tinción de CFSE y la ausencia de tinción de DRAQ7. Los resultados se muestran en la Figura 50, B a D.

Para determinar el efecto de los anticuerpos biespecíficos V δ 1 CD19 en la activación y desgranulación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1, la regulación descendente de TCR V δ 1 y la regulación ascendente de CD107a se cuantificó en presencia de células diana CD19⁺ y células sanas CD19⁺. Sucintamente, los anticuerpos se diluyeron en serie en PBS antes de agregarlos a las placas de fondo en U de 96 cavidades. Células NALM-6 y linfocitos B aislados se tiñeron con el tinte de células vivas CellTrace CFSE [0,5 μ M] durante 20 minutos. Se separaron linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 derivados de la piel de matraces de cultivo de tejidos y las suspensiones celulares se mezclaron 0,5:1 con células NALM-6 o linfocitos B. Se sembraron suspensiones celulares en placas de ensayo a 2,5x10⁴ de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 por cavidad a 5x10⁴ de células NALM-6 o linfocitos B por cavidad. Las concentraciones finales de anticuerpos de ensayo variaron de 60 nM a 3 pM. Las células se incubaron durante 4 horas a 37 °C, 5 % de CO₂. Las células se lavaron y se tiñeron para detectar células muertas (eFlour 520, Invitrogen), TCR V δ 1 (MiltenyiBiotec) y expresión en superficie de aCD107a (Miltenyi) durante 30 minutos a 4 °C. Las células se lavaron en amortiguador de FACS y se volvieron a suspender en Cell Fix (BD sciences) antes de incubarse durante la noche a 4 °C en la oscuridad. El nivel de expresión de TCR VD1 se midió mediante citometría de flujo al día siguiente con el MACS Quant Analyzer 16. Los resultados se muestran en la Figura 50, F a K.

Conclusión: Los biespecíficos V δ 1-CD19 mejoran la citotoxicidad mediada por linfocitos T $\gamma\delta$ de células diana CD19⁺ al tiempo que preservan células CD19⁺ sanas. La maduración de afinidad de anticuerpos V δ 1 mejora la citotoxicidad en comparación con los clones parentales en un formato monovalente.

EJEMPLO 27B: Los anticuerpos bioespecíficos V δ 1-CD19 mejoran selectivamente el efecto citotóxico de los linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en las células cancerosas mientras preservan las células sanas

El efecto de los anticuerpos biespecíficos CD19-V δ 1 sobre la citotoxicidad de células diana CD19⁺ y preservación de células sanas CD19⁺ se determinó con imágenes confocales de alto

contenido en el Opera Phenix (Perkin Elmer). Los linfocitos B sanos se aislaron de PBMC (Lonza), con la clasificación de células activadas magnéticas negativas (MACS; MiltenyiBiotec). Las células Raji y los linfocitos B primarios sanos se tiñeron con tintes CellTrace. Los linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 derivados de la piel expandidos y los linfocitos T $\alpha\beta$ emparejados con donante se eliminaron del cultivo, se lavaron y se volvieron a suspender en medio de cultivo antes de mezclar 1:1 con células Raji y linfocitos B. Los anticuerpos biespecíficos y controles se diluyeron en serie en PBS antes de agregarlos a placas de ensayo de imágenes de 384 cavidades (Perkin Elmer). Se agregaron suspensiones celulares de linfocitos T $\gamma\delta$, células Raji y linfocitos B, o linfocitos T $\alpha\beta$, células Raji y linfocitos B, o linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1, linfocitos T $\alpha\beta$, células Raji y linfocitos B a una placa de ensayo de imágenes de 384 cavidades para lograr 2.000 de cada tipo de célula y concentraciones finales de ensayo de anticuerpo que variaron de 6,6 nM a 66 pM. Para determinar las cantidades de células diana vivas, se adquirieron imágenes confocales con una plataforma de alto contenido Opera Phenix al capturar nueve campos de visión con un aumento de 10x. Los recuentos de células vivas se cuantificaron en función del tamaño, morfología, textura e intensidad de tinción de CFSE a las 24 horas. Los resultados se muestran en la **Figura 63, A a F**.

Para determinar si la activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 o linfocitos T $\alpha\beta$ dio como resultado una producción elevada de la citocina protumorigénica IL-17, se recolectaron los sobrenadantes de placas de imágenes después de adquirir imágenes a las 24 horas. Los sobrenadantes se procesaron en el U-Plex 10-plex Meso Scale Discovery (MSD) para cuantificar los niveles de IL-17A. Los resultados se muestran en la **Figura 63, G a I**.

IL-17A (interleucina-17A) es una citocina protumorigénica producida por los linfocitos T activados. IL-17A puede potenciar el crecimiento tumoral y disminuir la respuesta inmunitaria antineoplásica. Como se muestra en la **Figura 63, G a I**, los anticuerpos anti-V δ 1 no inducen la secreción de IL-17A, mientras que los anticuerpos anti-CD3 sí lo hacen.

Conclusión: Los anticuerpos biespecíficos V δ 1-CD19 mejoran la citotoxicidad mediada por linfocitos T $\gamma\delta$ de células diana CD19⁺ al tiempo que preservan células CD19⁺ sanas. Por el contrario, los biespecíficos anti-CD3xCD19 mejoraron la lisis mediada por linfocitos T $\gamma\delta$ y linfocitos T $\alpha\beta$ de células diana CD19⁺, sin embargo, la activación de linfocitos T $\alpha\beta$ también mejoró la lisis de linfocitos B CD19⁺ primarios sanos, así como la secreción de la citocina protumorigénica IL-17A.

EJEMPLO 28. Anticuerpos biespecíficos Vδ1-Her2 en ensayos de fijación y alto contenido de citotoxicidad

La expresión de Her2 y Vδ1 se determinó en células SK-BR-3 (Caltag-Medsystems Ltd), células BT-474 (ATCC), células MDA-MB-231-Luc (Creative Biogene Biotechnology) y linfocitos T γδ Vδ1. Sucintamente, se incubaron 5×10^4 células con anticuerpos Her2 y Vδ1 (MiltenyiBiotec) durante 15 minutos a 4 °C antes de lavarlas y fijarlas. La expresión de Her2 y Vδ1 se determinó mediante citometría de flujo (MACSQuant10, MiltenyiBiotec). Los resultados se muestran en la Figura 51A y 51B. La fijación de anticuerpos biespecíficos Her2-Vδ1 se determinó al incubar células diana con un rango de concentraciones de mAb ADT1-4 o ADT1-4-2 o anticuerpos bioespecíficos Vδ1, o controles (control de IgG o Trastuzumab) durante 15 minutos. Después del lavado, las células se incubaron durante 15 minutos adicionales con anticuerpos secundarios anti-IgG humanos antes de lavarlos y fijarlos. La cantidad de anticuerpo que se fija a cada tipo de célula se determinó mediante citometría de flujo. Los resultados se muestran en la Figura 51, C a F.

El efecto de los anticuerpos biespecíficos Her2-Vδ1 sobre la citotoxicidad de células diana Her2+/Her2 se determinó con imágenes confocales de alto contenido en el Opera Phenix (Perkin Elmer). Sucintamente, las células SK-BR-3, BT-474 y MDA-MB-231 se sembraron en placas de imágenes de 384 cavidades (Perkin Elmer) para obtener una densidad de siembra final de 2.000 células diana por cavidad antes de incubar durante la noche a 37 °C, 5 % de CO₂. Los anticuerpos se diluyeron en PBS y se diluyeron en serie 1:10 antes de agregarlos a las placas de ensayo para obtener concentraciones finales de ensayo de 333 nM a 0,33 pM. Se separaron linfocitos T γδ Vδ1 derivados de la piel expandidos de matraces de cultivo de tejidos y se volvieron a suspender en medio de crecimiento basal antes de agregarlos a la placa de ensayo de 2.000 células por cavidad a una relación efector:diana de 1:1. Las células se cocultivaron durante 24 horas antes de la tinción con Hoechst (1:1000 final, Invitrogen) y DRAQ7 (1:300 final, Abcam). Para determinar las cantidades de células diana vivas, se adquirieron imágenes confocales con una plataforma de alto contenido Opera Phenix al capturar nueve campos de visión con un aumento de 10x. Los recuentos de células vivas se cuantificaron en función del tamaño, morfología, textura e intensidad de las tinciones de células vivas y la ausencia de tinción de DRAQ7. Los resultados se muestran en la Figura 51, G a J.

Conclusión: Los anticuerpos biespecíficos Vδ1-Her2 mejoran la citotoxicidad mediada por linfocitos T γδ de células diana Her2⁺ al tiempo que preservan células Her2⁻. La maduración de afinidad de anticuerpos Vδ1 (ADT1-4-2) mejora la citotoxicidad en comparación con los clones parentales (ADT4-1).

5 **EJEMPLO 29. Afinidad de fijación de anticuerpo biespecífico Vδ1-EGFR a Vδ1 humano y antígeno de EGFR humano**

La afinidad de fijación de los anticuerpos a la diana (es decir, la cadena Vδ1 de un TCR γδ y EGFR) se establece mediante análisis SPR con un instrumento Reichert 4SPR (Reichert Technologies). El anticuerpo (1,5 ug/ml) se recubre sobre un chip sensor de proteína A plana
10 (Reichert Technologies) para obtener un aumento al inicio de aproximadamente 500 uRIU. El heterodímero Vδ1 humano recombinante o EGFR humano se pasó por encima de la célula a una concentración de 100 nM con los siguientes parámetros: 180 s de asociación, 480 s de disociación, velocidad de flujo 25 µl/min, amortiguador de corrida PBS + 0,05 % de Tween 20. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente. Los resultados se muestran en
15 la Figura 52A y 52B.

Conclusiones: Estos datos demuestran que los anticuerpos biespecíficos Vδ1/EGFR demuestran fijación a Vδ1 humano que es comparable con la de los anticuerpos anti-Vδ1 monoespecíficos usados en su preparación, además de la introducción de capacidad de fijación EGFR humano.

20 **EJEMPLO 30. Fijación de células diana de los anticuerpos biespecíficos Vδ1-EGFR**

Las células A431 EGFR positivas y los linfocitos T γδ Vδ1 positivos primarios se sometieron a ensayo para determinar la especificidad y afinidad de la fijación de anticuerpo biespecífico EGFR/Vδ1. Las células diana se separaron del matraz de cultivo de tejidos, se volvieron a suspender en PBS y se sembraron a una densidad final de 100.000 células por cavidad en
25 placas de 96 cavidades de fondo en forma de v. Las células se sometieron a centrifugación y los pélets celulares se volvieron a suspender en reactivo de bloqueo de FcR de acuerdo con las instrucciones del fabricante y se incubaron durante 20 minutos a 4 °C antes de un lavado adicional. Los anticuerpos se diluyeron hasta 500 nM en PBS y se diluyeron en serie 1:10 en PBS hasta 50 pM, y se agregaron a las células, seguido de una incubación de 20 minutos a
30 4 °C. Para determinar la cantidad de mAb que se fija a la superficie celular, las células se tiñeron con un anticuerpo secundario de IgG antihumano murino, conjugado a APC, dilución:

1:100) además de un tinte de viabilidad. Tras 20 minutos de incubación a 4 °C, las células se lavaron dos veces y la fluorescencia se midió con el MACSQuant. Los resultados se muestran en la Figura 53.

Conclusiones: Estos datos demuestran que los anticuerpos biespecíficos Vδ1/EGFR demuestran fijación a linfocitos T γδ Vδ1 positivos que es comparable con la de los anticuerpos anti-Vδ1 monoespecíficos usados en su preparación, a pesar de la introducción de fijación a la línea de células A431 positivas para EGFR.

EJEMPLO 31. Evaluación de la activación de linfocitos T γδ y citotoxicidad de células diana *in vitro*

Se separaron linfocitos T γδ Vδ1 derivados de la piel expandidos y células A431 de matraces de cultivo de tejidos y se volvieron a suspender en medio de crecimiento basal y se sembraron en placas de 96 cavidades en las diluciones de células relevantes en función de la relación efector:diana deseada. Los mAb se diluyeron y se agregaron a cada cavidad en la concentración especificada. Los cultivos luego se incubaron a 37 °C, 5 % de CO₂ durante 4 horas (D) o 24 horas (A-C, E). Para determinar las cantidades de células vivas, las células se recolectaron y se tiñeron con tinte de viabilidad en una dilución de 1:1000 durante 20 minutos. Para determinar el estado de CD25, las células se tiñeron en la superficie con un anticuerpo anti-CD25 después de la recolección de células. Para medir la desgranulación, el anticuerpo anti-CD107α conjugado con fluoróforo se agregó directamente en la mezcla de células-anticuerpo al inicio del cocultivo. Después de dos lavados y fijación de células, la fluorescencia se midió con el MACSQuant y se determinaron los recuentos de células vivas y la mediana de intensidad de fluorescencia. Los resultados se muestran en la Figura 54.

Conclusiones: Estos datos demuestran que los anticuerpos biespecíficos Vδ1/EGFR inducen la activación y desgranulación de linfocitos T γδ Vδ1 positivos primarios que lleva a una mayor lisis mediada por células de línea celular A431 EGFR positiva.

EJEMPLO 32. Evaluación adicional de activación de linfocitos T γδ y efectos de no agotamiento conferidos por los anticuerpos de esta invención

Para estudios con linfocitos T Vδ1+ derivados de sangre (Figura 55 A,B):

Los estudios se realizaron para explorar el efecto de estimular/activar las células Vδ1 con anticuerpo anti-Vδ1 con respecto a la regulación descendente de CD3 en células Vδ1. Esto se evaluó al incubar el clon ADT1-4-2 anti-Vδ1 con PBMC y luego evaluar el TCR por fenotipo.

Se obtuvieron en el comercio células mononucleares de sangre periférica (PBMC) humana criopreservada y se sembraron en placas de cultivo de tejido de fondo redondo de 96 cavidades a 250.000 células/cavidad en 250 μ l de medio completo (RPMI suplementado con 10 % de FCS, pen/estrep, aminoácidos no esenciales, piruvato de sodio y HEPES) con 10 ng/ml de IL15. Un anticuerpo V δ 1 de titulación ADT1-4-2 se agregó a una concentración final de 1 μ g/ml (6,67 nM), 0,01 μ g/ml (0,067 nM) o 0,0001 μ g/ml (0,00067 nM). El anticuerpo IgG RSV se incluyó como un control en una concentración emparejada. Los cultivos se incubaron durante 14 días, con medio y anticuerpo reabastecido cada 3 días. El análisis de citometría de flujo se realizó en el punto final para determinar el fenotipo de las células V δ 1 y la expresión de TCR en cada condición. Las células se regularon primero en singuletes vivos, seguido de pany δ (Miltenyi REA592; 130-113-508), que fue la regulación parental para V δ 1 (Miltenyi REA173; 130-100-553), que fue la misma regulación parental para CD3 (Miltenyi REA613; 130-113-142). Las poblaciones de células se identificaron a través de tinción positiva y luego el nivel relativo de expresión de cada marcador entre las muestras a través del MFI.

Para estudios en células V δ 1+ que residen en tumores (Figura 55 C,D,E):

Para la Figura 55 C, D y E, se enviaron biopsias frescas de tumores sólidos (extirpadas de pacientes con carcinoma de células renales (RCC)) y se procesaron una vez recibidas para obtener una única suspensión de células. Específicamente, el tejido se cortó en piezas que medían $\sim$ 2mm² y se colocó hasta 1 g de tejido en cada tubo C de Miltenyi junto con 4,7 ml de RPMI con enzimas del kit de disociación tumoral de Miltenyi a concentraciones recomendadas por el fabricante, además de la enzima R, que se usó a una concentración de 0,2X para impedir la escisión de las moléculas pertinentes de la superficie celular. Se colocaron tubos C en el gentleMACS™ Octo Dissociator con bloques calentadores adjuntos. Se seleccionó el programa 37C_h_TDK_1 para la disociación de los tumores suaves. Después de 1 hora, se filtró lo digerido a través de un filtro de 70 μ m y se agregó IMDM completo que contenía 4 % de plasma humano para inactivar la actividad enzimática. Luego las células se lavaron dos veces y se volvieron a suspender en IMDM completo para el recuento. En este punto, las células se colocaron en placas para la estimulación. 2,5x10⁶ células se colocaron en placas por cavidad en una placa de 24 cavidades y se estimularon con anticuerpos ADT-1-4-2 o control de isotipo anti-IgG1 en presencia de IL-15 a una concentración de 2 ng/ml. Los

linfocitos que infiltran tumores CD45+ (TIL) únicos vivos se analizaron mediante citometría de flujo 24 horas después de la estimulación de mAb.

La **Figura 55A** muestra el MFI de TCR V δ 1 tras la estimulación de anticuerpos como una indicación de acoplamiento diana de mAb. La **Figura 55B** muestra el MFI de expresión de CD3 en células V δ 1 reguladas positivamente. La estimulación con el clon de anticuerpo V δ 1 ADT1-4-2 se acopló con células V δ 1 y dio como resultado la regulación descendente de V δ 1 y CD3 en células V δ 1. **Combinadas, las Figuras 55C, D y E** muestran que la activación de linfocitos T V δ 1 asociados a tumores con anticuerpos anti-V δ 1 de ejemplo como se describen en la presente no agota los linfocitos T V δ 1+, sino que acopla y activa el complejo CD3/TCR $\gamma\delta$ y confiere su regulación descendente y pérdida de la expresión superficial. Específicamente, la **Figura 55C** muestra que cantidades absolutas de células $\gamma\delta$ + y V δ 1+ $\gamma\delta$ + totales por cavidad permanecen constantes después de la estimulación con ADT-1-4-2 o control de isotipo anti-IgG1. A pesar de que las cantidades absolutas de linfocitos T V δ 1 permanecen consistentes, la **Figura 55D** muestra que la expresión en superficie de TCR V δ 1, TCR pan $\gamma\delta$ y CD3 está regulada de manera descendente en linfocitos T V δ 1 después de la estimulación con ADT-1-4-2, pero no con control de isotipo anti-IgG1. En contraste, la expresión en superficie de CD45, una molécula que no está involucrada en la señalización de TCR, no cambia después de la estimulación con ADT-1-4-2. La **Figura 55E** muestra gráficos de FACS que representan los datos en la **Figura 55D** (concentración de mAb 33,3 nM), con linfocitos T V δ 1 etiquetados en gris. Aquí, los linfocitos T V δ 1+ se mueven diagonalmente hacia la porción inferior izquierda del gráfico a medida que la expresión en superficie de CD3 y pan $\gamma\delta$ está regulada de manera descendente después de la estimulación con ADT-1-4-2 pero no con controles de isotipo (paneles superiores como se indica), sin embargo, el % general de pan $\gamma\delta$ + de CD45+ permanece similar en ambas condiciones. La regulación adicional en la expresión de V δ 1 (paneles inferiores) muestra específicamente MFI de V δ 1 reducida después de la estimulación, hasta el punto en que una fracción pequeña (~5 %) se mueve desde la regulación positiva de TCR V δ 1 establecida hacia la regulación 'negativa' de V δ 1 (con un ~5 % de aumento concomitante en la regulación 'negativa' observada). Combinados, estos son datos importantes que ejemplifican que la activación de TCR V δ 1 con anticuerpos como se describe en la presente no agota los linfocitos T V δ 1+. Estos descubrimientos y similares pueden concebir que los anticuerpos de esta invención podrían ser empleados como

medicamentos para tratar una enfermedad o un trastorno tal como para mejorar al menos un signo o síntoma de una enfermedad o trastorno a través de un mecanismo que implica la activación de linfocitos T V δ 1+ que residen en sangre, tejido y tumor.

EJEMPLO 33: Los anticuerpos biespecíficos V δ 1-FAP α mejoran la activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 y la lisis de fibroblastos FAP α +

La cinética de fijación de la fijación de anticuerpos anti-V δ 1 (ADT1-4-2), anti-FAP α (a base de sibrotuzumab) y anti-V δ 1xFAP α (ADT1-4xsibrotuzumab) (SEQ ID NO: 401 o SEQ ID NO: 414 y SEQ ID NO: 415) a sus dianas (es decir, la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ y FAP α) se establecen mediante análisis SPR con un instrumento Reichert 4SPR (Reichert Technologies). El anticuerpo (1,5 ug/ml) se recubre sobre un chip sensor de proteína A plana (Reichert Technologies) para obtener un aumento al inicio de aproximadamente 500 uRIU. El heterodímero V δ 1 humano recombinante o FAP α humano se pasó por encima de la célula a una concentración de 100 nM con los siguientes parámetros: 180 s de asociación, 480 s de disociación, velocidad de flujo 25 μ l/min, amortiguador de corrida PBS + 0,05 % de Tween 20. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente. Los resultados se muestran en la **Figura 56, A**. Los valores KD son los siguientes:

Anticuerpo	KD V δ 1 [nM]	KD FAP α [nM]
Anti-V δ 1 (ADT1-4-2)	0,14 nM	n/a
Anti-FAP α (a base de sibrotuzumab)	n/a	3,9 nM
Anti-V δ 1xFAP α (ADT1-4-2x sibrotuzumab)	0,26 nM	1,4 nM

La fijación de anticuerpos biespecíficos V δ 1-FAP α se determinó al incubar células diana FAP α ⁺ o células efectoras V δ 1⁺ con un rango de concentraciones de anticuerpo anti-V δ 1 o anticuerpos biespecíficos V δ 1, o controles (control de IgG o anti- FAP α) durante 15 minutos.

Después del lavado, las células se incubaron durante 15 minutos adicionales con anticuerpos secundarios anti-Fc humanos antes de lavarlos y fijarlos. La cantidad de anticuerpo que se fija a cada tipo de célula se determinó mediante citometría de flujo. Los resultados se muestran en la **Figura 56, B a C.**

- 5 Para determinar el efecto de los anticuerpos biespecíficos V δ 1-FAP α en la activación y desgranulación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1, la regulación descendente de TCR V δ 1 y la regulación ascendente de CD107a se cuantificó en presencia de células diana FAP α ⁺. Sucintamente, los anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1, anti-FAP α and anti-V δ 1xFAP α se diluyeron en serie en PBS antes de agregarlos a las placas de fondo en U de 96 cavidades. Las células diana FAP α ⁺ (fibroblastos BJ o fibroblastos dérmicos humanos) se tiñeron con [0,5 μ M] tinte de células vivas CFSE CellTrace durante 20 minutos. Se separaron linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 derivados de la piel de matraces de cultivo y las suspensiones celulares se mezclaron 1:1 con células diana FAP α ⁺o diluidas 1:1 con medio. Se sembraron suspensiones celulares en placas de ensayo a 2,5x10⁴ de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 por cavidad en presencia o ausencia de 2,5x10⁴ células diana FAP α ⁺ por cavidad. Las concentraciones finales de anticuerpos de ensayo varían de 200 nM a 2 pM. Las células se incubaron durante 4 horas a 37 °C, 5 % de CO₂ antes de lavarlas y teñirlas para detectar células muertas (eFlour 520, Invitrogen), TCR V δ 1 (MiltenyiBiotec) y expresión superficial de α CD107a (Miltenyi) durante 30 minutos a 4 °C. Las células se lavaron en amortiguador de FACS y se volvieron a suspender en Cell Fix (BD sciences) antes de incubar durante la noche a 4 °C en la oscuridad. El TCR VD1 y el nivel de expresión de CD107a, determinado mediante mediana de intensidad de fluorescencia (MFI), se midió mediante citometría de flujo al día siguiente con el MACS Quant Analyzer 16. Los resultados se muestran en la **Figura 56 D-G.**

- 25 Se observa regulación descendente de TCR V δ 1 moderada en ausencia de fibroblastos FAP α ⁺ (**Figura 56, D**). Sin embargo, en presencia de fibroblastos FAP α ⁺, los anticuerpos biespecíficos anti-FAP α -V δ 1 mejoran en gran medida la regulación descendente de TCR (**Figura 56, E**). Esto muestra el efecto de anticuerpos biespecíficos anti-FAP α -V δ 1 en la regulación descendente de TCR V δ 1 en los linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 se mejora a través de fijación a un antígeno específico de tumor tales como FAP α , en células adyacentes.

- 30 En presencia de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xFAP α y fibroblastos FAP α ⁺, CD107a (un marcador de desgranulación) se regula de manera ascendente en linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en

comparación con controles monoclonales (**Figura 56, G**). Cuando los fibroblastos FAP α ⁺ no están presentes, CD107a no se regula de manera ascendente en linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en comparación con controles monoclonales (**Figura 56, F**). Esto muestra el efecto de anticuerpos biespecíficos anti-FAP α -V δ 1 en la regulación ascendente de CD107a en linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 es específico y los anticuerpos biespecífico anti- FAP α -V δ 1 mejoran la desgranulación y activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en presencia de células FAP α ⁺.

El efecto de los anticuerpos biespecíficos FAP α -V δ 1 sobre la citotoxicidad de células diana FAP α ⁺ se determinó con imágenes confocales de alto contenido en el Opera Phenix (Perkin Elmer). Las células diana FAP α ⁺ (fibroblastos BJ, fibroblastos dérmicos humanos) es sembraron en placas de imágenes de 384 cavidades (Perkin Elmer) y se incubaron durante 24 horas. Los anticuerpos biespecíficos y controles se diluyeron en serie en PBS antes de agregarlos a placas de ensayo. Se separaron linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 derivados de la piel expandidos de matraces de cultivo de tejidos y se volvieron a suspender en medio de crecimiento basal antes de agregarlos a las placas de ensayo de una relación efector:diana de 1:1. Las concentraciones finales de anticuerpos de ensayo variaron de 6,6 nM a 66 fM. Las células se cocultivaron durante 24 horas antes de la tinción con DRAQ7 (1:300 final, Abcam) y Hoechst (1:1.000, Invitrogen). Para determinar las cantidades de células diana vivas, se adquirieron imágenes confocales con una plataforma de alto contenido Opera Phenix al capturar nueve campos de visión con un aumento de 10x. Los recuentos de células vivas se cuantificaron en función del tamaño, morfología, textura e intensidad de las tinciones Hoechst y la ausencia de tinción de DRAQ7. Los resultados se muestran en la **Figura 56, H**. En presencia de anticuerpos biespecíficos anti-FAP α -V δ 1, se observó un aumento marcado en la citotoxicidad de fibroblastos en comparación con controles anti-V δ 1 y anti-FAP α (**Figura 56, H**). Esto demuestra que la unión por puente directa de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 con células diana puede mejorar específicamente la activación y efecto citotóxico de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1.

Conclusiones: Los anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1-FAP α se fijan específicamente a linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1⁺ y las células diana FAP α ⁺ que da como resultado la activación mejorada de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en presencia de células FAP α ⁺, indicado por regulación descendente elevada de TCR V δ 1, regulación ascendente de CD107a y lisis de fibroblastos FAP α ⁺.

EJEMPLO 34: Los anticuerpos biespecíficos V δ 1-MSLN mejoran la activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 y la lisis de células diana MSLN⁺.

La cinética de fijación de la fijación de anticuerpos anti-V δ 1 (ADT1-4-2), anti-MSLN (mesotelina) (a base de anticuerpos divulgados en US 2014/0004121) y anticuerpos anti-V δ 1xMSLN (ADT1-4-2xMSLN) (SEQ ID NO: 403 o SEQ ID NO: 414 y SEQ ID NO: 416) a sus dianas (es decir, la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ y MSLN) se establece por análisis SPR con un instrumento Reichert 4SPR (Reichert Technologies). El anticuerpo (1,5 ug/ml) se recubre sobre un chip sensor de proteína A plana (Reichert Technologies) para obtener un aumento al inicio de aproximadamente 500 uRIU. El heterodímero V δ 1 humano recombinante o MSLN humano se pasó por encima de la célula a una concentración superior de 100 nM con los siguientes parámetros: 180 s de asociación, 480 s de disociación, velocidad de flujo 25 μ l/min, amortiguador de corrida PBS + 0,05 % de Tween 20. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente. Los resultados se muestran en la **Figura 57, A**. Los valores KD son los siguientes:

Anticuerpo	KD V δ 1 [nM]	KD FAP α [nM]
Anti-V δ 1 (ADT1-4-2)	0,01 nM	n/a
Anti-MSLN (a base de anticuerpos divulgados en US 2014/0004121)	n/a	0,52 nM
Anti-V δ 1xMSLN (ADT1-4-2xMSLN)	0,026 nM	0,87 nM

La fijación de anticuerpos biespecíficos V δ 1-MSLN se determinó al incubar células diana MSLN⁺ o células efectoras V δ 1⁺ con un rango de concentraciones de anticuerpo anti-V δ 1 o anticuerpos biespecíficos V δ 1, o controles (control de IgG o anti- MSLN) durante 15 minutos. Después del lavado, las células se incubaron durante 15 minutos adicionales con anticuerpos secundarios anti-IgG humanos antes de lavarlos y fijarlos. La cantidad de anticuerpo que se fija a cada tipo de célula se determinó mediante citometría de flujo. Los resultados se muestran en la **Figura 57, B a C**.

Para determinar el efecto de los anticuerpos biespecíficos MSLN-V δ 1 en la activación y desgranulación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1, la regulación descendente de TCR V δ 1 y la regulación ascendente de CD107a se cuantificó en presencia de células diana MSLN⁺. Sucintamente, los anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1, anti-MSLN y anti-V δ 1xMSLN se diluyeron en serie en PBS

5 antes de agregarlos a las placas de fondo en U de 96 cavidades. Las células diana MSLN⁺ (OVCAR-3 o HeLa) se tiñeron con el tinte de células vivas CellTrace CFSE [0,5 μ M] durante 20 minutos. Se separaron linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 derivados de la piel de matraces de cultivo y las suspensiones celulares se mezclaron 1:1 con células diana MSLN⁺ o diluidas 1:1 con medio. Se sembraron suspensiones celulares en placas de ensayo a $2,5 \times 10^4$ de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1

10 por cavidad en presencia o ausencia de $2,5 \times 10^4$ células diana MSLN⁺ por cavidad. Las concentraciones finales de anticuerpos de ensayo varían de 200nM a 2pM. Las células se incubaron durante 4 horas a 37 °C, 5 % de CO₂ antes de lavarlas y teñirlas para detectar células muertas (eFlour 520, Invitrogen), TCR V δ 1 (MiltenyiBiotec) y expresión superficial de aCD107a (Miltenyi) durante 30 minutos a 4 °C. Las células se lavaron en amortiguador de

15 FACS y se volvieron a suspender en Cell Fix (BD sciences) antes de incubar durante la noche a 4 °C en la oscuridad. El TCR VD1 y el nivel de expresión de CD107a, determinado mediante mediana de intensidad de fluorescencia (MFI), se midió mediante citometría de flujo al día siguiente con el MACS Quant Analyzer 16. Los resultados se muestran en la **Figura 57 D-G**.

Se observa regulación descendente de TCR V δ 1 moderada en ausencia de células diana MSLN⁺ (**Figura 57, D**). Sin embargo, en presencia de células OVCAR-3 MSLN⁺, los anticuerpos biespecíficos anti-MSLN-V δ 1 mejoran en gran medida la regulación descendente de TCR (**Figura 57, E**). Esto muestra el efecto de anticuerpos biespecíficos anti-MSLN-V δ 1 en la regulación descendente de TCR V δ 1 en los linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 se mejora a través de fijación a un antígeno específico de tumor tales como MSLN, en células adyacentes.

25 En presencia de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xMSLN y células OVCAR-3 MSLN⁺, CD107a (un marcador de desgranulación) se regula de manera ascendente en linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en comparación con controles monoclonales (**Figura 57, G**). Cuando las células OVCAR-3 MSLN⁺ no están presentes, CD107a no se regula de manera ascendente en linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en comparación con controles monoclonales (**Figura 57, F**). Esto muestra el efecto de anticuerpos biespecíficos anti-MSLN-V δ 1 en la regulación ascendente de CD107a en

30 linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 es específico y los anticuerpos biespecífico anti- MSLN-V δ 1 mejoran la

desgranulación y activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en presencia de células MSLN⁺.

El efecto de los anticuerpos biespecíficos MSLN-V δ 1 sobre la citotoxicidad de células diana MSLN⁺ se determinó con imágenes confocales de alto contenido en el Opera Phenix (Perkin Elmer). Las células diana MSLN⁺ (HeLa u OVCAR-2) se sembraron en placas de imágenes de 384 cavidades (Perkin Elmer) y se incubaron durante 24 horas. Los anticuerpos biespecíficos y controles se diluyeron en serie en PBS antes de agregarlos a placas de ensayo. Se separaron linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 derivados de la piel expandidos de matraces de cultivo de tejidos y se volvieron a suspender en medio de crecimiento basal antes de agregarlos a las placas de ensayo de una relación efector:diana de 1:1. Las concentraciones finales de anticuerpos de ensayo variaron de 6,6 nM a 66 fM. Las células se cocultivaron durante 24 horas antes de la tinción con DRAQ7 (1:300 final, Abcam) y Hoechst (1:1.000, Invitrogen). Para determinar las cantidades de células diana vivas, se adquirieron imágenes confocales con una plataforma de alto contenido Opera Phenix al capturar nueve campos de visión con un aumento de 10x. Los recuentos de células vivas se cuantificaron en función del tamaño, morfología, textura e intensidad de las tinciones Hoechst y la ausencia de tinción de DRAQ7. Los resultados se muestran en la **Figura 57**, H. En presencia de anticuerpos biespecíficos anti-MSLN-V δ 1, se observó un aumento marcado en la citotoxicidad de células diana en comparación con controles anti-V δ 1 y anti-MSLN (**Figura 57, H**). Esto demuestra que la unión por puente directa de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 con células diana puede mejorar específicamente la activación y efecto citotóxico de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1.

Conclusiones: Los anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xMSLN se fijan específicamente a linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1⁺ y las células diana MSLN⁺ que da como resultado la activación mejorada de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 en presencia de células MSLN⁺, indicado por regulación descendente elevada de TCR V δ 1, regulación ascendente de CD107a y lisis de fibroblastos MSLN⁺.

EJEMPLO 35: Los anticuerpos biespecíficos V δ 1-PD-1 mejoran la activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 y bloquean la inhibición de puntos de control PD-1/PD-L1

La cinética de fijación de la fijación de anticuerpos anti-V δ 1 (ADT1-4-2), anti-PD-1 (a base de pembrolizumab) y anti-V δ 1xPD-1 (ADT1-4-2xpembrolizumab) (SEQ ID NO: 405 o SEQ ID NO: 438 y SEQ ID NO: 417) para fijarse (es decir, la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ y PD-1) se establecen mediante análisis SPR con un instrumento Reichert 4SPR (Reichert Technologies). El anticuerpo (1,5 ug/ml) se recubre sobre un chip sensor de proteína A plana

(Reichert Technologies) para obtener un aumento al inicio de aproximadamente 500 uRIU. El heterodímero Vδ1 humano recombinante o PD-1 humano se pasó por encima de la célula a una concentración superior de 100 nM. Los resultados se muestran en la **Figura 58A**. Los valores KD son los siguientes:

5

	VD1 KD [nM]	TIGIT KD [nM]
Anti-Vδ1 (ADT1-4-2)	0,29	n/a
Anti-PD-1 (a base de pembrolizumab)	n/a	0,95
Anti-Vδ1xAnti-PD-1 (ADT1-4-2xpembrolizumab)	1,5	0,9

Para evaluar la fijación dual de los anticuerpos biespecíficos a ambos ligandos diana, PD-1 recombinante se inmovilizó primero en un chip sensor de dextrano carboximetilado (Reichert Technologies) a 10 ug/ml antes de pasar por encima los anticuerpos biespecíficos a 100 nM. Luego se evaluó la capacidad de fijarse posteriormente al TCR γδ Vδ1 al pasar por encima el heterodímero Vδ1 humano recombinante a 100 nM. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente. Los resultados se muestran en la **Figura 58**.

10

Se evaluó la fijación de anticuerpos biespecíficos anti-Vδ1xPD-1 a los linfocitos T γδ Vδ1 y las células inmunitarias PD-1⁺ mediante citometría de flujo. Inicialmente los linfocitos T CD4 y CD8 se seleccionaron negativamente mediante clasificación magnética de capas leucocitarias de PBMC extraídas de sangre entera. Después de la activación de anticuerpos anti-CD3/anti-CD28 conjugados con Dynabeads (Invitrogen), la expresión en superficie celular de PD-1 se detectó en linfocitos T CD4 y CD8. Los linfocitos T activados y los linfocitos T γδ Vδ1 se incubaron con un rango de concentraciones de anticuerpos biespecíficos anti-Vδ1xPD-1 o controles (control de IgG o anti-PD-1) durante 15 minutos. Después del lavado, las células se incubaron durante 15 minutos adicionales con anticuerpos secundarios anti-IgG humanos antes de lavarlos y fijarlos. La cantidad de anticuerpo que se fija a cada tipo de célula se determinó mediante citometría de flujo. Los resultados se muestran en la **Figura 58 C, D**.

15

20

Para determinar el efecto de los anticuerpos biespecíficos anti-Vδ1xPD-1 en la activación de

linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1, la regulación descendente de TCR V δ 1 se cuantificó en presencia de linfocitos T PD-1⁺. Sucintamente, los anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1, anti-PD-1 y anti-V δ 1xPD-1 se diluyeron en serie en PBS antes de agregarlos a las placas de ensayo. Los linfocitos T PD-1⁺ se tiñeron con el tinte de células vivas CellTrace CFSE y se mezclaron 1:1 con linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 derivados de la piel o diluidos 1:1 con medio. Se sembraron suspensiones celulares en placas de ensayo a $2,5 \times 10^4$ de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 por cavidad en presencia o ausencia de $2,5 \times 10^4$ linfocitos T PD-1⁺ por cavidad. Las concentraciones finales de anticuerpos de ensayo varían de 200 nM a 2 pM. Las células se incubaron durante 4 horas a 37 °C, 5 % de CO₂ antes de lavarlas y teñirlas para detectar células muertas (eFlour 520, Invitrogen) y TCR V δ 1 (MiltenyiBiotec). Las células se lavaron y se volvieron a suspender en Cell Fix (BD sciences). El nivel de expresión de TCR V δ 1 se determinó mediante mediana de intensidad de fluorescencia (MFI), medido mediante citometría de flujo con el MACS Quant Analyzer 16. Los resultados se muestran en la **Figura 58 E, F**.

Para evaluar el efecto de los anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xPD-1 sobre la activación de los linfocitos T PD-1⁺, las células Jurkat PD-1⁺ NFAT (Promega, JA2191) se incubaron con anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xPD-1 o controles (anticuerpo monoclonal PD-1 o anti-RSVIgGxanti-PD-1) durante 5 horas a 37 °C, 5 % de CO₂. El ensayo se realizó en presencia o ausencia de proteína V δ 1 recombinante recubierta previamente a 1 μ g/cavidad en placas opacas, blancas de 96 cavidades. Luego de 5 horas, el reactivo de luciferasa Bio-Glo (Promega) se agregó a las células en una relación 1:1. Luego de incubación durante 5 minutos a temperatura ambiente, se detectó la señal de luminiscencia en un lector de placas BioTek Synergy. La señal de luminiscencia sin procesar se convirtió en unidades de luminiscencia relativa de plegamiento (RLU). Los resultados se muestran en la **Figura 58 G**.

Conclusiones: los anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xPD-1 mejoran la activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1, por ejemplo, mediante reticulación a través de linfocitos T CD4 o CD8 PD-1⁺, así como el bloqueo de la inhibición del punto de control inmunitario PD-1/PD-L1 en linfocitos T CD4 o CD8.

EJEMPLO 36: Los anticuerpos biespecíficos V δ 1-4-1BB mejoran la activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 y linfocitos T CD8

La cinética de fijación de la fijación de anticuerpos anti-V δ 1 (ADT1-4-2), anti-4-1BB (a base de utomilumab) y anti-V δ 1x4-1BB (ADT1-4-2xutomilumab) (SEQ ID NO: 407 o SEQ ID NO: 414 y

SEQ ID NO: 418) a sus dianas (es decir, la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ y 4-1BB) se establece mediante análisis SPR con un instrumento Reichert 4SPR (Reichert Technologies). El anticuerpo (1,5 ug/ml) se recubre sobre un chip sensor de proteína A plana (Reichert Technologies) para obtener un aumento al inicio de aproximadamente 500 uRIU. El

5 heterodímero V δ 1 humano recombinante o 4-1BB humano se pasó por encima de la célula a una concentración superior de 100 nM. Los resultados se muestran en la **Figura 59, A**. Los valores KD son los siguientes:

Anticuerpo	KD VD1 [nM]	KD 4-1BB [nM]
Anti-Vδ1 (ADT1-4-2)	1,25 nM	n/a
Anti-4-1BB (a base de utomilumab)	n/a	32 nM
Anti-RSVxAnti-4-1BB	n/a	86 nM
Anti-Vδ1xanti-4-1BB (ADT1-4-2xutomilumab)	1,2 nM	91 nM

Para evaluar la fijación dual de los anticuerpos biespecíficos a ambos ligandos diana, 4-1BB

10 recombinante se inmovilizó primero en un chip sensor de dextrano carboximetilado (Reichert Technologies) a 10 ug/ml antes de pasar por encima los anticuerpos biespecíficos a 100 nM. Luego se evaluó la capacidad de fijarse posteriormente al TCR $\gamma\delta$ V δ 1 al pasar por encima el heterodímero V δ 1 humano recombinante a 100 nM. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente. Los resultados se muestran en la **Figura 59 B**.

15 Se evaluó la fijación de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1x4-1BB a los linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 y las células inmunitarias 4-1BB⁺ mediante citometría de flujo. Inicialmente los linfocitos T CD8⁺

se seleccionaron negativamente mediante clasificación magnética de capas leucocitarias de PBMC extraídas de sangre entera. Después de la activación de anticuerpos anti-CD3/anti-CD28 conjugados con Dynabeads (Invitrogen), la expresión en superficie celular de 4-1BB era elevada en linfocitos T CD8. Los linfocitos T CD8 4-1BB⁺ activados y los linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 se incubaron con un rango de concentraciones de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1x4-1BB o controles (control de IgG o anti-4-1BB) durante 15 minutos. Después del lavado, las células se incubaron durante 15 minutos adicionales con anticuerpos secundarios anti-IgG humanos antes de lavarlos y fijarlos. La cantidad de anticuerpo que se fija a cada tipo de célula se determinó mediante citometría de flujo. Los resultados se muestran en la **Figura 59 C, D**.

Para determinar el efecto de los anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1x4-1BB en la activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1, la regulación descendente de TCR V δ 1 se cuantificó en presencia de linfocitos T 4-1BB⁺. Sucintamente, los anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1, anti-4-1BB y anti-V δ 1x4-1BB se diluyeron en serie en PBS antes de agregarlos a las placas de ensayo. Los linfocitos T CD8 4-1BB⁺ se tiñeron con tinte de células vivas CellTrace CFSE y se mezclaron 1:1 con linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 derivados de la piel o diluidos 1:1 con medio. Se sembraron suspensiones celulares en placas de ensayo a $2,5 \times 10^4$ de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 por cavidad en presencia o ausencia de $2,5 \times 10^4$ linfocitos T 4-1BB⁺ CD8 por cavidad. Las concentraciones finales de anticuerpos de ensayo varían de 200 nM a 2 pM. Las células se incubaron durante 4 horas a 37 °C, 5 % de CO₂ antes de lavarlas y teñirlas para detectar células muertas (eFlour 520, Invitrogen) y TCR V δ 1 (MiltenyiBiotec). Las células se lavaron y se volvieron a suspender en Cell Fix (BD sciences). El nivel de expresión de TCR VD1 se determinó mediante mediana de intensidad de fluorescencia (MFI), medido mediante citometría de flujo con el MACS Quant Analyzer 16. Los resultados se muestran en la **Figura 59 E, F**.

Para evaluar el efecto de los anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1x4-1BB sobre la activación de los linfocitos T 4-1BB⁺, las células Jurkat 4-1BB⁺ NFAT (Promega, JA2191) se incubaron con anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1x4-1BB o controles (anticuerpo monoclonal anti-4-1BB o anti-RSVIgGxanti-PD-1) durante 5 horas a 37 °C, 5 % de CO₂. El ensayo se realizó en presencia o ausencia de proteína V δ 1 recombinante recubierta previamente a 1 μ g/cavidad en placas opacas, blancas de 96 cavidades. Luego de 5 horas, el reactivo de luciferasa Bio-Glo (Promega) se agregó a las células en una relación 1:1. Luego de incubación durante 5 minutos a temperatura ambiente, se detectó la señal de luminiscencia en un lector de placas

BioTek Synergy. La señal de luminiscencia sin procesar se convirtió en unidades de luminiscencia relativa de plegamiento (RLU). Los resultados se muestran en la **Figura 59 G**.

Conclusiones: los anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1x4-1BB mejoran la activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1, por ejemplo, mediante reticulación a linfocitos T CD8 4-1BB⁺, así como la

EJEMPLO 37: Los anticuerpos biespecíficos V δ 1-OX40 mejoran la activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 y linfocitos T CD4

La cinética de fijación de la fijación de anticuerpos anti-V δ 1 (ADT1-4-2), anti-OX40 (a base de pogalizumab) y anti-V δ 1xOX40 (ADT1-4-2xpogalizumab) (SEQ ID NO: 409 o SEQ ID NO: 414 y SEQ ID NO: 419) a sus dianas (es decir, la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ y OX40) se establecen mediante análisis SPR con un instrumento Reichert 4SPR (Reichert Technologies). El anticuerpo (1,5 ug/ml) se recubre sobre un chip sensor de proteína A plana (Reichert Technologies) para obtener un aumento al inicio de aproximadamente 500 uRIU. El heterodímero V δ 1 humano recombinante o OX40 humano se pasó por encima de la célula a una concentración superior de 100 nM. Los resultados se muestran en la **Figura 60, A**. Los valores KD son los siguientes:

Anticuerpo	KD V δ 1 [nM]	KD OX40 [nM]
Anti-V δ 1 (ADT1-4-2)	1,25 nM	n/a
Anti-OX40 (a base de pogalizumab)	n/a	0,82 nM
Anti-RSVxAnti-OX40	n/a	1,84 nM
Anti-V δ 1xanti-OX40 (ADT1-4-2xpogalizumab)	1,2 nM	1,63 nM

Para evaluar la fijación dual de los anticuerpos biespecíficos a ambos ligandos diana, OX40 recombinante se inmovilizó primero en un chip sensor de dextrano carboximetilado (Reichert Technologies) a 10 ug/ml antes de pasar por encima los anticuerpos biespecíficos a 100 nM. Luego se evaluó la capacidad de fijarse posteriormente al TCR $\gamma\delta$ V δ 1 al pasar por encima el

heterodímero Vδ1 humano recombinante a 100 nM. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente. Los resultados se muestran en la **Figura 60, B**.

Se evaluó la fijación de anticuerpos biespecíficos anti-Vδ1xOX40 a linfocitos T γδ Vδ1 y células inmunitarias OX40⁺ mediante citometría de flujo. Inicialmente los linfocitos T CD4⁺ se seleccionaron negativamente mediante clasificación magnética de capas leucocitarias de PBMC extraídas de sangre entera. Después de la activación de anticuerpos anti-CD3/anti-CD28 conjugados con Dynabeads (Invitrogen), la expresión en superficie celular de OX40 era elevada en linfocitos T CD4. Los linfocitos T CD4 OX40⁺ activados y los linfocitos T γδ Vδ1 se incubaron con un rango de concentraciones de anticuerpos biespecíficos anti-Vδ1xOX40 o controles (control de IgG o anti-OX40) durante 15 minutos. Después del lavado, las células se incubaron durante 15 minutos adicionales con anticuerpos secundarios anti-IgG humanos antes de lavarlos y fijarlos. La cantidad de anticuerpo que se fija a cada tipo de célula se determinó mediante citometría de flujo. Los resultados se muestran en la **Figura 60, C, D**.

Para determinar el efecto de los anticuerpos biespecíficos anti-Vδ1xOX40 en la activación de linfocitos T γδ Vδ1, la regulación descendente de TCR Vδ1 se cuantificó en presencia de linfocitos T OX40⁺. Sucintamente, los anticuerpos biespecíficos anti-Vδ1, anti-OX40 y anti-Vδ1xOX40 se diluyeron en serie en PBS antes de agregarlos a las placas de ensayo. Los linfocitos T CD4 OX40⁺ se tiñeron con tinte de células vivas CellTrace CFSE y se mezclaron 1:1 con linfocitos T γδ Vδ1 derivados de la piel o diluidos 1:1 con medio. Se sembraron suspensiones celulares en placas de ensayo a $2,5 \times 10^4$ de linfocitos T γδ Vδ1 por cavidad en presencia o ausencia de $2,5 \times 10^4$ linfocitos T OX40⁺ CD4 por cavidad. Las concentraciones finales de anticuerpos de ensayo varían de 200nM a 2pM. Las células se incubaron durante 4 horas a 37 °C, 5 % de CO₂ antes de lavarlas y teñirlas para detectar células muertas (eFlour 520, Invitrogen) y TCR Vδ1 (MiltenyiBiotec). Las células se lavaron y se volvieron a suspender en Cell Fix (BD sciences). El nivel de expresión de TCR VD1 se determinó mediante mediana de intensidad de fluorescencia (MFI), medido mediante citometría de flujo con el MACS Quant Analyzer 16. Los resultados se muestran en la **Figura 60, E, F**.

Para evaluar el efecto de los anticuerpos biespecíficos anti-Vδ1xOX40 sobre la activación de los linfocitos T OX40⁺, las células Jurkat OX40⁺ NFAT (Promega, JA2191) se incubaron con anticuerpos biespecíficos anti-Vδ1xOX40 o controles (OX40L (ligando de OX40), anti-OX40 o anti-RSVIgGxanti-OX40) durante 5 horas a 37 °C, 5 % de CO₂. El ensayo se realizó en

presencia o ausencia de proteína V δ 1 recombinante recubierta previamente a 1 μ g/cavidad en placas opacas, blancas de 96 cavidades. Luego de 5 horas, el reactivo de luciferasa Bio-Glo (Promega) se agregó a las células en una relación 1:1. Luego de incubación durante 5 minutos a temperatura ambiente, se detectó la señal de luminiscencia en un lector de placas BioTek Synergy. La señal de luminiscencia sin procesar se convirtió en unidades de luminiscencia relativa de plegamiento (RLU). Los resultados se muestran en la **Figura 60, G**.

Conclusiones: los anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xOX40 mejoran la activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1, por ejemplo, mediante reticulación a linfocitos T CD4 OX40⁺, así como la activación de linfocitos T OX40⁺.

EJEMPLO 38: Los anticuerpos biespecíficos V δ 1-TIGIT mejoran la activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 y bloquean la inhibición del punto de control TIGIT/PVR(CD155)

La cinética de fijación de la fijación de anticuerpos anti-V δ 1 (ADT1-4-2), anti-TIGIT (a base de tiragolumab) y anti-V δ 1xTIGIT (ADT1-4-2xtiragolumab) (SEQ ID NO: 411 o SEQ ID NO: 439 y SEQ ID NO: 420) a sus dianas (es decir, la cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$ y TIGIT) se establecen mediante análisis SPR con un instrumento Reichert 4SPR (Reichert Technologies). El anticuerpo (1,5 μ g/ml) se recubre sobre un chip sensor de proteína A plana (Reichert Technologies) para obtener un aumento al inicio de aproximadamente 500 uRIU. El heterodímero V δ 1 humano recombinante o TIGIT humano se pasó por encima de la célula a una concentración superior de 100 nM. Los resultados se muestran en la **Figura 61, A**. Los valores KD son los siguientes:

Anticuerpo	VD1 KD [nM]	TIGIT KD [nM]
Anti-V δ 1 (ADT1-4-2)	0,29	n/a
Anti-TIGIT (a base de tiragolumab)	n/a	0,3
Anti-V δ 1xAnti-TIGIT (ADT1-4-2xtiragolumab)	1,9	0,3

Para evaluar la fijación dual de los anticuerpos biespecíficos a ambos ligandos diana, TIGIT

recombinante se inmovilizó primero en un chip sensor de dextrano carboximetilado (Reichert Technologies) a 10 ug/ml antes de pasar por encima los anticuerpos biespecíficos a 100 nM. Luego se evaluó la capacidad de fijarse posteriormente al TCR $\gamma\delta$ V δ 1 al pasar por encima el heterodímero V δ 1 humano recombinante a 100 nM. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente. Los resultados se muestran en la **Figura 61, B**.

Se evaluó la fijación de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xTIGIT a linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 y células inmunitarias TIGIT⁺ mediante citometría de flujo. Inicialmente los linfocitos T CD4 y CD8 se seleccionaron negativamente mediante clasificación magnética de capas leucocitarias de PBMC extraídas de sangre entera. Después de la activación de anticuerpos anti-CD3/anti-CD28 conjugados con Dynabeads (Invitrogen), la expresión en superficie celular de 4-1BB se detectó en linfocitos T CD4 y CD8. Los linfocitos T activados y los linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 se incubaron con un rango de concentraciones de anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1x4-1BB o controles (control de IgG o anti-4-1BB) durante 15 minutos. Después del lavado, las células se incubaron durante 15 minutos adicionales con anticuerpos secundarios anti-IgG humanos antes de lavarlos y fijarlos. La cantidad de anticuerpo que se fija a cada tipo de célula se determinó mediante citometría de flujo. Los resultados se muestran en la **Figura 61, C, D**.

Para determinar el efecto de los anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xTIGIT en la activación de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1, la regulación descendente de TCR V δ 1 se cuantificó en presencia de linfocitos T TIGIT⁺. Sucintamente, los anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1, anti-TIGIT y anti-V δ 1xTIGIT se diluyeron en serie en PBS antes de agregarlos a las placas de fondo. Los linfocitos T CD8 TIGIT⁺ se tiñeron con tinte de células vivas CellTrace CFSE y se mezclaron 1:1 con linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 derivados de la piel o diluidos 1:1 con medio. Se sembraron suspensiones celulares en placas de ensayo a $2,5 \times 10^4$ de linfocitos T $\gamma\delta$ V δ 1 por cavidad en presencia o ausencia de $2,5 \times 10^4$ linfocitos T TIGIT⁺ CD8 por cavidad. Las concentraciones finales de anticuerpos de ensayo varían de 200 nM a 2 pM. Las células se incubaron durante 4 horas a 37 °C, 5 % de CO₂ antes de lavarlas y teñirlas para detectar células muertas (eFlour 520, Invitrogen) y TCR V δ 1 (MiltenyiBiotec). Las células se lavaron y se volvieron a suspender en Cell Fix (BD sciences). El nivel de expresión de TCR V δ 1 se determinó mediante mediana de intensidad de fluorescencia (MFI), medido mediante citometría de flujo con el MACS Quant Analyzer 16. Los resultados se muestran en la **Figura 61, E, F**.

Para evaluar el efecto de los anticuerpos biespecíficos anti-V δ 1xTIGIT sobre la activación de

los linfocitos T Vδ1xTIGIT⁺, las células Jurkat TIGIT⁺ NFAT (Promega, JA2191) se incubaron con anticuerpos biespecíficos anti-Vδ1xTIGIT o controles (anticuerpo monoclonal anti-TIGIT o anti-RSVIgGxanti-TIGIT) durante 5 horas a 37 °C, 5 % de CO₂. El ensayo se realizó en presencia o ausencia de proteína Vδ1 recombinante recubierta previamente a 1 µg/cavidad en placas opacas, blancas de 96 cavidades. Luego de 5 horas, el reactivo de luciferasa Bio-Glo (Promega) se agregó a las células en una relación 1:1. Luego de incubación durante 5 minutos a temperatura ambiente, se detectó la señal de luminiscencia en un lector de placas BioTek Synergy. La señal de luminiscencia sin procesar se convirtió en unidades de luminiscencia relativa de plegamiento (RLU). Los resultados se muestran en la **Figura 61, G**.

Conclusiones: los anticuerpos biespecíficos anti-Vδ1xTIGIT mejoran la activación de linfocitos T γδ Vδ1, por ejemplo, mediante reticulación a través de linfocitos T CD8 TIGIT⁺, así como el bloqueo de la inhibición del punto de control inmunitario TIGIT/CD155 en linfocitos T CD8.

EJEMPLO 39: Los anticuerpos Anti-Vδ1 no inducen ADCC.

Se usó un bioensayo indicador de ADCC (Promega) para evaluar el nivel de ADCC (citotoxicidad mediada por células dependiente del anticuerpo) inducida por anticuerpos anti-Vδ1 en comparación con anticuerpos de control.

ADCC se refiere al fenómeno biológico mediante el cual las células efectoras inactivan las células diana que se etiquetan mediante anticuerpos. Las células efectoras se fijan a los anticuerpos a través de sus receptores de Fcy y posteriormente inactivan la célula diana. El bioensayo indicador de ADCC presentado aquí descubre los mecanismos potenciales de ADCC de acción de anticuerpos que se evalúan dentro del ensayo, al detectar la iniciación temprana de ADCC a través de la activación de transcripción de genes a través de la vía NFAT (factor nuclear de linfocitos T activados). El ensayo indicador es un sistema diseñado por ingeniería genética que utiliza células efectoras (Jurkat) que expresan receptor FcyRIIIa de alta afinidad unido a la vía NFAT que está adicionalmente diseñada por ingeniería genética para que, al activarla, induzca la actividad adicional de la enzima de luciferasa de luciérnaga. La actividad de luciferasa se cuantifica con una lectura de luminiscencia que se puede correlacionar con los niveles de ADCC que tienen lugar.

Este ensayo se utiliza para entender si los anticuerpos anti-Vδ1 o, de manera adecuada, el brazo anti-Vδ1 de anticuerpos multiespecíficos, impulsarían una reacción de ADCC. Las

células diana usadas fueron células $\gamma\delta$ que se fijan al anticuerpo anti-V δ 1 a través del TCR $\gamma\delta$ V δ 1. Si existe un mecanismo de acción de ADCC, el anticuerpo anti-V δ 1 se uniría a los receptores de Fc γ en las células efectoras de ensayo y generaría una señal de luminiscencia; si no se genera una señal, esto sugeriría que no ocurre ADCC.

- 5 El kit de bioensayo indicador de ADCC (Promega) se usó para este ensayo. Se descongeló una botella de amortiguador de ensayo de luciferasa Bio-Glo y se transfirió a la botella de sustrato. La mezcla se mantuvo a temperatura ambiente durante 4-6 horas. Una placa de dilución se preparó con concentraciones de anticuerpos (a 3X de concentración) que variaban de 10 nM a 0,01 nM (concentración final) para los siguientes anticuerpos: anticuerpo anti-V δ 1 (ADT1-4-2), mismo anticuerpo anti-V δ 1 pero deshabilitado por Fc (L235A, G237A) (ADT1-4-2 LAGA), Rituximab, RSV y OKT3. Las células diana (células $\gamma\delta$) se sembraron en las 2 placas de ensayo a 25 μ l por cavidad. Luego, 25 μ l de la solución de anticuerpo adecuada de la placa de dilución de anticuerpo se transfirió a la cavidad adecuada. Las células efectoras (células Jurkat diseñadas por ingeniería genética) se descongelaron en amortiguador de ensayo
- 15 caliente, se volvieron a suspender en 4 ml del amortiguador de ensayo y se pipeteó 25 μ l de la solución de células efectoras en cada cavidad. Luego las placas se incubaron a 37 °C durante 4,5 horas. Después del período de incubación, se permitió que las placas se equilibraran a temperatura ambiente, después de lo cual se agregaron 75 μ l de reactivo de ensayo de luciferasa Bio-Glo a cada cavidad y las placas se incubaron durante 10 minutos a temperatura ambiente. Luego las placas se leyeron con un lector de placas Biotek H4 que recolectó las señales de luminiscencia (como unidades de luz relativa RLU) de las placas. Se calculó la inducción de plegamiento con la siguiente ecuación: Plegamiento de inducción = RLU (inducido–antecedentes) /RLU (sin control de anticuerpo–antecedentes).
- 20

- Como un control positivo, se usó OKT3 (anticuerpo anti-CD3). Como un control positivo
- 25 adicional, se sembraron células Raji en lugar de células $\gamma\delta$ en las cavidades de control. Las células Raji son una línea celular que se suele aceptar para demostrar una fuerte reacción de ADCC cuando se usa con el anticuerpo anti-CD20, Rituximab. Como un control interno y para comprender si los anticuerpos anti-V δ 1 impulsan ADCC en ausencia de fijación de V δ 1 sobre células $\gamma\delta$, los anticuerpos anti-V δ 1 de esta invención y los mismos anticuerpos anti-V δ 1 pero deshabilitados por Fc, L235A, G237A) también se agregaron con las células efectoras solas.
- 30

Los resultados se muestran en la **Figura 62**.

Conclusiones: Se mostró una fuerte reacción de ADCC en el control positivo con Rituximab con células Raji y se demostró una reacción de ADCC aún más fuerte con OKT3 contra células $\gamma\delta$. En contraste, no se detectó ninguna reacción de ADCC en las condiciones con los anticuerpos anti-V δ 1 de esta invención, los mismos anticuerpos anti-V δ 1 pero también el L235A, G237A o control negativo RSV deshabilitado por Fc. Esto demuestra que en este sistema, los anticuerpos de esta invención que se fijan a V δ 1 (tales como mAb anti-V δ 1 o anticuerpos multiespecíficos anti-V δ 1) no muestran evidencia de un mecanismo de acción de ADCC. Notablemente, incluso los anticuerpos anti-V δ 1 habilitados por Fc no agotan los linfocitos T $\gamma\delta$, lo que proporciona la opción de mantener la función de Fc en los anticuerpos anti-V δ 1 presentados en la presente, lo que agrega funcionalidad, por ejemplo, en entornos tumorales de Fc γ altos. Esto resalta además la idoneidad de dichos anticuerpos anti-V δ 1 para la inclusión en formatos de anticuerpo biespecíficos como se describe en la presente.

De manera adecuada, las propiedades funcionales de los anticuerpos cuando se proporcionan en un formato monoespecífico se comparten por los anticuerpos multiespecíficos de la invención que se fijan además específicamente a un segundo antígeno.

FORMAS DE REALIZACIÓN

La presente invención incluye al menos las siguientes formas de realización numeradas:

1. Un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

una región variable de la cadena pesada que comprende una VHCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID

NO: 55 a 78 y 133 a 143; y/o

una región variable de la cadena liviana que comprende una VLCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 82 a 105 y 147 a 157.

2. Un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 1, que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende:

una VHCDR1 que comprende o consiste en una secuencia de secuencia de aminoácidos que
5 tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 51, 52 y 130.

una VHCDR2 que comprende o consiste en una secuencia de secuencia de aminoácidos que
10 tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 53 y 131; y

una VHCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de secuencia de aminoácidos que
15 tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 55 a 78 y 133 a 143; y/o

una región variable de la cadena liviana que comprende:

una VLCDR1 que comprende o consiste en una secuencia de secuencia de aminoácidos que
20 tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 79 y 144;

una VLCDR2 que comprende o consiste en una secuencia de secuencia de aminoácidos que
25 tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 80 y 145; y

una VLCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de secuencia de aminoácidos que
30 tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al

menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO: 82 a 105 y 147 a 157.

3. Un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 1 o la forma de realización 2, que comprende:

una región variable de cadena pesada que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2 a 25 y 107 a 117; y/o

una región variable de cadena liviana que comprende o consiste en una secuencia que tiene al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 27 a 50 y 119 a 129.

4. Un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

a. una VHCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 55 a 78; y/o

b. una VLCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 82 a 105.

5. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, que comprende:

a. una VHCDR3 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO: 55 a 78; y/o

b. una VLCDR3 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO: 82 a 105

6. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, que comprende además:

a. una VHCDR1 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al

menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 51 o SEQ ID NO: 52;

b. una VHCDR2 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 53;

c. una VLCDR1 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 79; y/o

d. una VLCDR2 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 80.

7. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, que comprende además:

10 a. una VHCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51 o SEQ ID NO: 52;

b. una VHCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53;

c. una VLCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79; y/o

d. una VLCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80.

8. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, que comprende:

20 a. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 55, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 82, respectivamente;

b. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 56, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 83, respectivamente;

c. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprende o consiste en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 57, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprende o consiste en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 84, respectivamente;

- d. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 58, respectivamente, y una VLCDR1, a VLCDR2 and a VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 85, respectivamente;
- 5 e. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 59, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 86, respectivamente;
- f. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las
10 secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 60, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprende o consiste en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 87, respectivamente;
- g. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las
15 secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 52, 53 y 61, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 88, respectivamente;
- h. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las
20 secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 62, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 89, respectivamente;
- i. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las
secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 63, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 90, respectivamente;
- 25 j. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las
secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 64, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 91, respectivamente;
- k. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las
30 secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 65, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de

SEQ ID NO: 79, 80 y 92, respectivamente;

l. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 52, 53 y 66, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de
5 SEQ ID NO: 79, 80 y 93, respectivamente;

m. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 67, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de
10 SEQ ID NO: 79, 80 y 94, respectivamente;

n. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 68, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de
15 SEQ ID NO: 79, 80 y 95, respectivamente;

o. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 69, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de
20 SEQ ID NO: 79, 80 y 96, respectivamente;

p. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 70, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de
25 SEQ ID NO: 79, 80 y 97, respectivamente;

q. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 71, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de
30 SEQ ID NO: 79, 80 y 98, respectivamente;

r. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 72, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de
SEQ ID NO: 79, 80 y 99, respectivamente;

s. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 73, respectivamente, y una VLCDR1, una

VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 100, respectivamente;

t. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 52, 53 y 74, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 101, respectivamente;

u. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 75, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 102, respectivamente;

v. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 76, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 103, respectivamente;

w. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 77, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 104, respectivamente; o

x. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, 53 y 78, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, 80 y 105, respectivamente.

9. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, que comprende:

a. una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 2 a 25; y/o

b. una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 27 a 50.

10. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, que comprende:

a. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de cualquiera de

SEQ ID NO: 2 a 25; y/o

b. una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO: 27 a 50.

11. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, que comprende:

a. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 2 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 27;

b. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 3 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 28;

c. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 4 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 29;

d. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 5 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 30;

e. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 6 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 31;

f. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 7 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 32;

g. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 8 y una VL que comprende o

consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 33;

h. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 9 y una VL que comprende o

5 consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 34;

i. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 10 y una VL que comprende o
consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de

10 secuencia con SEQ ID NO: 35;

j. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 11 y una VL que comprende o
consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de
secuencia con SEQ ID NO: 36;

15 k. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 12 y una VL que comprende o
consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de
secuencia con SEQ ID NO: 37;

l. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al
20 menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 13 y una VL que comprende o
consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de
secuencia con SEQ ID NO: 38;

m. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al
menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 14 y una VL que comprende o
25 consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de
secuencia con SEQ ID NO: 39;

n. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al
menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o
consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de
30 secuencia con SEQ ID NO: 40;

o. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al

menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 16 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 41;

5 p. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 17 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42;

10 q. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 18 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43;

15 r. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 19 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 44;

s. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 20 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 45;

20 t. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 21 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 46;

25 u. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 22 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 47;

30 v. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 23 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 48;

- w. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 24 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 49; o
- 5 x. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 25 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 80 % de identidad de secuencia con cualquiera de SEQ ID NO: 50.
12. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con
10 cualquier forma de realización anterior, que comprende:
- a. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 27;
- b. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 3 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 28;
- 15 c. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 29;
- d. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 30;
- e. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6 y
20 una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 31;
- f. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 32;
- g. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 33;
- 25 h. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 34;
- i. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 10 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 35;
- j. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 11
30 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36;
- k. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 12

- y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 37;
- l. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 13
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 38;
- m. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 14
5 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 39;
- n. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40;
- o. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 16
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 41;
- 10 p. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 17
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 42;
- q. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 18
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 43;
- r. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 19
15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 44;
- s. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 20
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 45;
- t. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 46;
- 20 u. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 47;
- v. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 48;
- w. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24
25 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 49; o
- x. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 25
y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 50.
13. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con
cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al
30 antígeno de este comprende un residuo de aminoácidos que no es serina en la posición 74 de
acuerdo con el sistema de numeración IMGT de secuencia variable de la cadena liviana

kappa.

14. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 13, en donde el residuo en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en glicina, alanina, valina, metionina, leucina e isoleucina.

15. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 13, en donde el residuo en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en arginina, cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, tirosina y valina.

16. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 13, en donde el residuo en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración de secuencia variable de la cadena liviana kappa IMGT es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en glicina, valina, metionina, leucina e isoleucina.

17. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 13, en donde el residuo en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT es un residuo de leucina.

18. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este es un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en ADT1-4-105, ADT1-4-107, ADT1-4-110, ADT1-4-112, ADT1-4-117, ADT1-4-19, ADT1-4-21, ADT1-4-31, ADT1-4-139, ADT1-4-4, ADT1-4-143, ADT1-4-53, ADT1-4-173, ADT1-4-2, ADT1-4-8, ADT1-4-82, ADT1-4-83, ADT1-4-3, ADT1-4-84, ADT1-4-86, ADT1-4-95, ADT1-4-1, ADT1-4-6 y ADT1-4-138.

19. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 18, en donde el anticuerpo comprende de 1 a 10, de 1 a 5 o de 1 a 2 sustituciones de aminoácidos en todas las 6 regiones de CDR.

20. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 18 o la forma de realización 19, en donde el anticuerpo comprende hasta 2 o hasta 1 sustitución de aminoácidos en todas las 6 regiones de CDR.

21. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con

cualquiera de las reivindicaciones 18 a 20, en donde el anticuerpo comprende 1 o 2 sustituciones de aminoácidos en todas las 6 regiones de CDR.

22. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 18 a 21, en donde el anticuerpo comprende 1 a 10, 1 a 5 o 1 a 2 sustituciones de aminoácidos en una o más regiones de marco.

23. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 18 a 22, en donde el anticuerpo comprende hasta 2 o hasta 1 sustitución de aminoácidos en una o más regiones de marco.

24. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 18 a 23, en donde el anticuerpo comprende 1 o 2 sustituciones de aminoácidos en una o más regiones de marco.

25. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 18 a 24, en donde las sustituciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos conservadoras.

26. Un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

a. una secuencia de HCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de GDSVSSKSX₁A;

b. una secuencia de HCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 53

c. una secuencia de HCDR3 que comprende o consiste en la secuencia X₂WX₃X₄X₅X₆DX₇, en donde la secuencia de HCDR3 no es SEQ ID NO: 54;

d. una secuencia de LCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 79;

e. una secuencia de LCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 80; y

f. una secuencia de LCDR3 que comprende o consiste en la secuencia QQX₈YX₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃T, en donde la secuencia de LCDR3 no es SEQ ID NO: 81; en donde cada uno de X₁ a X₁₃ es un aminoácido natural.

27. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 26, en donde:

- a. X_1 se selecciona del grupo que consiste en A y V;
 - b. X_2 se selecciona del grupo que consiste en S y T;
 - c. X_3 se selecciona del grupo que consiste en V, A y L;
 - d. X_4 se selecciona del grupo que consiste en G, E y D;
 - 5 e. X_5 se selecciona del grupo que consiste en Y y N;
 - f. X_6 se selecciona del grupo que consiste en V, A y P;
 - g. X_7 se selecciona del grupo que consiste en V, Y y R;
 - h. X_8 se selecciona del grupo que consiste en K, R y G;
 - i. X_9 se selecciona del grupo que consiste en S y K;
 - 10 j. X_{10} se selecciona del grupo que consiste en T, Q, A, E y D;
 - k. X_{11} se selecciona del grupo que consiste en P, H y D;
 - l. X_{12} se selecciona del grupo que consiste en Q, R, K, W, P, E e I; y
 - m. X_{13} se selecciona del grupo que consiste en I, V y L.
28. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la
- 15 forma de realización 26 o la forma de realización 27, en donde el anticuerpo comprende además:
- a. una secuencia de HFR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 170 o 171;
 - b. una secuencia de HFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO:
 - 20 172;
 - c. una secuencia de HFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 173;
 - d. una secuencia de HFR4 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 174;
 - 25 e. una secuencia de LFR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 175;
 - f. una secuencia de LFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 176;
 - g. una secuencia de LFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 177
 - 30 o 178; y
 - h. una secuencia de LFR4 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO:

179, 180, 181 o 182.

29. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este:

- a. se fija a TRDV1 humana (SEQ ID NO: 272 o 306) con una afinidad de fijación (K_D , por ejemplo, medida mediante resonancia de plasmones superficiales) menor de alrededor de 100 nM (preferentemente, menor de alrededor de 50 nM);
- b. se fija opcionalmente a TRDV1 de *Macaca fascicularis* (SEQ ID NO: 308) con una afinidad de fijación (K_D , por ejemplo, medida mediante resonancia de plasmones superficiales) menor de alrededor de 100 nM (preferentemente, menor de alrededor de 50 nM);
- 10 c. tiene una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 50 nM (preferentemente, menor de alrededor de 10 nM);
- d. tiene una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM); y/o
- e. tiene una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

15 30. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este:

- a. se fija a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 100 nM (preferentemente, menor de alrededor de 50 nM);
- 20 b. se fija a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con una K_D menor de alrededor de 100 nM (preferentemente, menor de alrededor de 50 nM);
- c. tiene una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 50 nM (preferentemente, menor de alrededor de 10 nM) y una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 100 nM (menor de alrededor de 50 nM);
- 25 d. tiene una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM)
- e. tiene una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

31. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 26, en donde:

- 30 a. X_1 se selecciona del grupo que consiste en A y V;
- b. X_2 se selecciona del grupo que consiste en S y T;

- c. X_3 se selecciona del grupo que consiste en V, A y L;
- d. X_4 se selecciona del grupo que consiste en G, E y D;
- e. X_5 se selecciona del grupo que consiste en Y y N;
- f. X_6 se selecciona del grupo que consiste en V, A y P;
- 5 g. X_7 se selecciona del grupo que consiste en V, Y y R;
- h. X_8 se selecciona del grupo que consiste en K, R y G;
- i. X_9 se selecciona del grupo que consiste en S y K;
- j. X_{10} se selecciona del grupo que consiste en T, Q, A, E y D;
- k. X_{11} se selecciona del grupo que consiste en P y H;
- 10 l. X_{12} se selecciona del grupo que consiste en Q, R, K, W, P, E e I; y
- m. X_{13} se selecciona del grupo que consiste en I, V y L.
- 32. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 31, en donde el anticuerpo comprende además:
 - a. una secuencia de HFR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 15 170 o 171;
 - b. una secuencia de HFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 172;
 - c. una secuencia de HFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 173;
 - 20 d. una secuencia de HFR4 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 174;
 - e. una secuencia de LFR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 175;
 - f. una secuencia de LFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 25 176;
 - g. una secuencia de LFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 177; y
 - h. una secuencia de LFR4 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 179, 180, 181 o 182.
- 30 33. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este:

- a. se fija a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM);
 - b. se fija a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con una K_D menor de alrededor de 100 nM (preferentemente, menor de alrededor de 50 nM);
 - 5 c. tiene una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 1 nM (preferentemente, menor de alrededor de 0,5 nM) y una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (menor de alrededor de 5 nM);
 - d. tiene una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM); y/o
 - 10 e. tiene una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.
34. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 26, en donde:
- a. X_1 se selecciona del grupo que consiste en A y V;
 - b. X_2 se selecciona del grupo que consiste en S y T;
 - 15 c. X_3 se selecciona del grupo que consiste en V, A y L;
 - d. X_4 se selecciona del grupo que consiste en G y D;
 - e. X_5 se selecciona del grupo que consiste en Y y N;
 - f. X_6 se selecciona del grupo que consiste en V, A y P;
 - g. X_7 se selecciona del grupo que consiste en V, Y y R;
 - 20 h. X_8 se selecciona del grupo que consiste en K y R;
 - i. X_9 se selecciona del grupo que consiste en S y K;
 - j. X_{10} se selecciona del grupo que consiste en T, Q, A y E;
 - k. X_{11} se selecciona del grupo que consiste en P y H;
 - l. X_{12} se selecciona del grupo que consiste en Q, K, W, P e I; y
 - 25 m. X_{13} se selecciona del grupo que consiste en V y L.
35. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 34, en donde el anticuerpo comprende además:
- a. una secuencia de HFR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 170 o 171;
 - 30 b. una secuencia de HFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 172;

- c. una secuencia de HFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 173;
 - d. una secuencia de HFR4 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 174;
 - 5 e. una secuencia de LFR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 175;
 - f. una secuencia de LFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 176;
 - g. una secuencia de LFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 177; y
 - 10 h. una secuencia de LFR4 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 179 o 181.
36. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este:
- 15 a. se fija a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM);
 - b. se fija a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con una K_D menor de alrededor de 50 nM;
 - c. tiene una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 1 nM (preferentemente, menor de alrededor de 0,5 nM) y una IC90 para la regulación descendente
 - 20 de TCR menor de alrededor de 10 nM (menor de alrededor de 5 nM);
 - d. tiene una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM);
 - e. tiene una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.
37. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con
- 25 cualquier forma de realización anterior, en donde el epítipo que se fija al anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno comprende uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 37-53 y/o 59-77 de SEQ ID NO: 272.
38. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con
- 30 cualquier forma de realización anterior, en donde el epítipo que se fija al anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este comprende residuos de aminoácidos 37, 42, 50, 53, 59, 64, 68, 69, 72, 73 y 77 de SEQ ID NO: 272.

39. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el epítipo que se fija al anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno consiste en los residuos de aminoácidos 37, 42, 50, 53, 59, 64, 68, 69, 72, 73 y 77 de SEQ ID NO: 272.
- 5 40. Un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:
- a. una VHCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 133 a 143; y/o
 - b. una VLCDR3 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al
- 10 menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 147 a 157.
41. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 40, que comprende:
- a. una VHCDR3 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO: 133 a 143; y/o
 - 15 b. una VLCDR3 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO: 147 a 157.
42. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 40 a 41, que comprende:
- a. una VHCDR1 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al
- 20 menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 130;
- b. una VHCDR2 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 131;
 - c. una VLCDR1 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 144; y/o
- 25 d. una VLCDR2 que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 145.
43. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 40 a 42, que además comprende:
- a. una VHCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID
- 30 NO: 130;
- b. una VHCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID

NO: 131;

c. una VLCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144; y/o

d. una VLCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145.

44. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las forma de realización 40 a 43, que comprende:

a. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, 131 y 133, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, 145 y 147, respectivamente;

b. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, 131 y 134, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, 145 y 148, respectivamente;

c. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, 131 y 135, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, 145 y 149, respectivamente;

d. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, 131 y 136, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, 145 y 150, respectivamente;

e. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, 131 y 137, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, 145 y 151, respectivamente;

f. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, 131 y 138, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprende o consiste en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, 145 y 152, respectivamente;

- g. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, 131 y 139, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprende o consiste en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, 145 y 153, respectivamente;
- 5 h. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, 131 y 140, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, 145 y 154, respectivamente;
- 10 i. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, 131 y 141, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, 145 y 155, respectivamente;
- 15 j. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, 131 y 142, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, 145 y 156, respectivamente; o
- 20 k. una VHCDR1, una VHCDR2 y una VHCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 130, 131 y 143, respectivamente, y una VLCDR1, una VLCDR2 y una VLCDR3 que comprenden o consisten en las secuencias de aminoácidos de SEQ ID NO: 144, 145 y 157, respectivamente;
45. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las forma de realización 40 a 44, que comprende:
- a. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 107 a 117; y/o
- 25 b. una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 119 a 129.
46. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las forma de realización 40 a 45, que comprende:
- a. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de cualquiera de
- 30 SEQ ID NO: 107 a 117; y/o
- b. una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de cualquiera de

SEQ ID NO: 119 a 129.

47. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las forma de realización 40 a 46, que comprende:

- a. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 107 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 119;
- b. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 108 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 120;
- c. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 109 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 121;
- d. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 110 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 122;
- e. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 111 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 123;
- f. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 112 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 124;
- g. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 113 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 125;

- h. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 114 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 126;
- 5 i. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 115 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 127;
- j. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al
10 menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 116 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 128; o
- k. una VH que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al
15 menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 117 y una VL que comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos 90 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 129.
48. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las forma de realización 40 a 47, que comprende:
- a. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 107
20 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 119;
- b. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 108 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 120;
- c. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 109 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 121;
- 25 d. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 110 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 122;
- e. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 111 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 123;
- f. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 112
30 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 124;
- g. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 113

- y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 125;
- h. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 114 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 126;
- i. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 115 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 127;
- j. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 116 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 128; o
- k. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 117 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 129.
49. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 40 a 48, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este comprende una secuencia variable de la cadena liviana kappa que tiene un residuo de aminoácidos que no es serina en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT.
50. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 49, en donde el residuo en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT de la secuencia variable de la cadena liviana es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en glicina, alanina, valina, metionina, leucina e isoleucina.
51. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 49, en donde el residuo en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT de la secuencia variable de la cadena liviana es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en arginina, cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, tirosina y valina.
52. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 49, en donde el residuo en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT de la secuencia variable de la cadena liviana es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en glicina, valina, metionina, leucina e isoleucina.
53. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 49, en donde el residuo en la posición 74 de acuerdo con el sistema de

numeración IMGT de la secuencia variable de la cadena liviana es un residuo de leucina.

54. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 40 a 53, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este es un anticuerpo seleccionado del grupo que consiste en ADT1-7-10, ADT1-7-15, ADT1-7-17, ADT1-7-18, ADT1-7-19, ADT1-7-20, ADT1-7-22 ADT1-7-23, ADT1-7-42, ADT1-7-3 y ADT1-7-61.

55. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 54, en donde el anticuerpo comprende de 1 a 10, de 1 a 5 o de 1 a 2 sustituciones de aminoácidos en todas las 6 regiones de CDR.

56. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 54 o 55, en donde el anticuerpo comprende hasta 2 o hasta 1 sustitución de aminoácidos en todas las 6 regiones de CDR.

57. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 54 a 56, en donde el anticuerpo comprende 1 o 2 sustituciones de aminoácidos en todas las 6 regiones de CDR.

58. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 54 a 57, en donde el anticuerpo comprende 1 a 10, 1 a 5 o 1 a 2 sustituciones de aminoácidos en una o más regiones de marco.

59. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 54 a 55, en donde el anticuerpo comprende hasta 2 o hasta 1 sustitución de aminoácidos en una o más regiones de marco.

60. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 54 a 59, en donde el anticuerpo comprende 1 o 2 sustituciones de aminoácidos en una o más regiones de marco.

61. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 55 a 60, en donde las sustituciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos conservadoras.

62. Un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende:

a. una secuencia de HCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO:

- b. una secuencia de HCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 131
- c. una secuencia de HCDR3 que comprende o consiste en la secuencia $X_1X_2YX_3X_4AFDI$, en donde la secuencia de HCDR3 no es SEQ ID NO: 132;
- 5 d. una secuencia de LCDR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 144;
- e. una secuencia de LCDR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 145; y
- f. una secuencia de LCDR3 que comprende o consiste en la secuencia de
- 10 $QQX_5X_6X_7X_8LX_9T$, en donde la secuencia de LCDR3 no es SEQ ID NO: 146; en donde cada uno de X_1 a X_9 es un aminoácido natural.
63. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 62, en donde:
- a. X_1 se selecciona del grupo que consiste en D, I y V;
- 15 b. X_2 se selecciona del grupo que consiste en D y S;
- c. X_3 se selecciona del grupo que consiste en N, E, D, Q y A;
- d. X_4 se selecciona del grupo que consiste en D y E;
- e. X_5 se selecciona del grupo que consiste en T y S;
- f. X_6 se selecciona del grupo que consiste en A, G, Y e S;
- 20 g. X_7 se selecciona del grupo que consiste en S y D;
- h. X_8 se selecciona del grupo que consiste en T, E y G; y
- i. X_9 se selecciona del grupo que consiste en L y D.
64. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 62 o la forma de realización 63, en donde el anticuerpo comprende
- 25 además:
- a. una secuencia de HFR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 189;
- b. una secuencia de HFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 190;
- 30 c. una secuencia de HFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 191;

- d. una secuencia de HFR4 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 192;
 - e. una secuencia de LFR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 193 y 194;
 - 5 f. una secuencia de LFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 195;
 - g. una secuencia de LFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 196; y
 - h. una secuencia de LFR4 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 10 197.
65. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 40 a 64, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este:
- a. se fija a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, 15 menor de alrededor de 5 nM);
 - b. tiene una IC₅₀ para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 50 nM (preferentemente, menor de alrededor de 10 nM);
 - c. tiene una IC₅₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM)
 - 20 d. tiene una IC₉₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.
66. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 62, en donde:
- a. X₁ se selecciona del grupo que consiste en D y V;
 - b. X₂ se selecciona del grupo que consiste en D y S;
 - 25 c. X₃ se selecciona del grupo que consiste en D, Q y A;
 - d. X₄ se selecciona del grupo que consiste en D y E;
 - e. X₅ es S;
 - f. X₆ se selecciona del grupo que consiste en A e Y;
 - g. X₇ es S;
 - 30 h. X₈ se selecciona del grupo que consiste en E y G; y
 - i. X₉ se selecciona del grupo que consiste en L y D.

67. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 66, en donde el anticuerpo comprende además:

- a. una secuencia de HFR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 189;
- 5 b. una secuencia de HFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 190;
- c. una secuencia de HFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 191;
- d. una secuencia de HFR4 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 10 192;
- e. una secuencia de LFR1 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 193;
- f. una secuencia de LFR2 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 195;
- 15 g. una secuencia de LFR3 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 196; y
- h. una secuencia de LFR4 que comprende o consiste en la secuencia de SEQ ID NO: 197.

68. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las forma de realización 40 a 67, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este:

- a. se fija a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM);
- b. tiene una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 5 nM 25 (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM);
- c. tiene una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM);
- d. tiene una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM)
- 30 e. tiene una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM)

69. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 40 a 68, en donde el epítipo que se fija al anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno comprende uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 5-20 y/o 62-77 de SEQ ID NO: 271.

5 70. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 40 a 69, en donde el epítipo que se fija al anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este comprende residuos de aminoácidos 5, 9, 16, 20, 62, 64, 72 y 77 de SEQ ID NO: 272.

10 71. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 40 a 70, en donde el epítipo que se fija al anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este comprende residuos de aminoácidos 5, 9, 16, 20, 62, 64, 72 y 77 de SEQ ID NO: 272.

15 72. Un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este es una variante con maduración de afinidad de un anticuerpo anti-V δ 1 parental o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 parental o fragmento de fijación al antígeno de este comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y una secuencia de VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26.

20 73. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de la forma de realización 72, en donde el anticuerpo es un anticuerpo como se define en cualquiera de las formas de realización 4 a 40.

25 74. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las forma de realización 4 a 40, 72 o 73, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este:

a. se fija a TRDV1 humana con una KD menor de alrededor de 100 nM (preferentemente, menor de alrededor de 50 nM);

b. se fija a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con una KD menor de alrededor de 100 nM (preferentemente, menor de alrededor de 50 nM);

30 c. tiene una IC₅₀ para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 50 nM (preferentemente, menor de alrededor de 10 nM) y una IC₉₀ para la regulación descendente

de TCR menor de alrededor de 100 nM (menor de alrededor de 50 nM);

d. tiene una IC₅₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM); y/o

e. tiene una IC₉₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

5 75. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las forma de realización 4 a 40, 72 o 73, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este:

a. se fija a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM);

10 b. se fija a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con una K_D menor de alrededor de 100 nM (preferentemente, menor de alrededor de 50 nM);

c. tiene una IC₅₀ para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 1 nM (preferentemente, menor de alrededor de 0,5 nM) y una IC₉₀ para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (menor de alrededor de 5 nM);

15 d. tiene una IC₅₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM); y/o

e. tiene una IC₉₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

76. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las forma de realización 4 a 40, 72 o 73, en donde el anticuerpo o fragmento de
20 fijación al antígeno de este:

a. se fija a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM);

b. se fija a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con una K_D menor de alrededor de 50 nM;

25 c. tiene una IC₅₀ para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 1 nM (preferentemente, menor de alrededor de 0,5 nM) y una IC₉₀ para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (menor de alrededor de 5 nM);

d. tiene una IC₅₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM);

e. tiene una IC₉₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

30 77. Un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este

es una variante con maduración de afinidad de un anticuerpo anti-V δ 1 parental o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 parental o fragmento de fijación al antígeno de este comprende una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 106 y una secuencia de VL que comprende la secuencia de aminoácidos de
 5 SEQ ID NO: 118.

78. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de la forma de realización 77, en donde el anticuerpo es un anticuerpo como se define en cualquiera de las formas de realización 41 a 71.

79. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con
 10 cualquiera de las forma de realización 41 a 71, 77 o 78, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este:

- a. se fija a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM);
- b. tiene una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 50 nM
 15 (preferentemente, menor de alrededor de 10 nM);
- c. tiene una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM); y/o
- d. tiene una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

80. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con
 20 cualquiera de las forma de realización 41 a 71, 77 o 78, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este:

- a. se fija a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM);
- b. tiene una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 5 nM
 25 (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM);
- c. tiene una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM);
- d. tiene una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM); y/o
- 30 e. tiene una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM)

81. Un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este es una variante con maduración de afinidad de un anticuerpo anti-V δ 1 parental o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 parental o fragmento de fijación al antígeno de este comprende:

- a. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 273 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 282;
- b. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 274 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 283;
- 10 c. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 275 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 284;
- d. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 276 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 285;
- e. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 277 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 286;
- 15 f. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 278 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 287;
- g. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 279 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 288;
- 20 h. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 280 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 289;
- i. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 281 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 290; o
- j. una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 312 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 313.
- 25

82. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 72 a 81, en donde el anticuerpo con maduración de afinidad tiene al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, al menos 50 %, al menos 100 %, al menos 500 % o, con mayor preferencia, al menos alrededor de 1000 % de afinidad mayor que aquella con la que el anticuerpo parental se fija a una cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T (TCR) $\gamma\delta$, por ejemplo, como se mide según la Kd.

30

83. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 72 a 82, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 con maduración de afinidad o fragmento de fijación al antígeno de este comprende secuencias de VH y VL que son al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 95 % o al menos 96 % idénticas a las secuencias de VH y VL parentales correspondientes.
84. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 72 a 82, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 con maduración de afinidad o fragmento de fijación al antígeno de este comprende hasta 20, por ejemplo, hasta 15, por ejemplo, por ejemplo, hasta 10 sustituciones de aminoácidos en comparación con las secuencias de anticuerpos parentales.
85. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo no comprende una VHCDR3 que tiene SEQ ID NO: 54 y una VLCDR3 que tiene SEQ ID NO: 81, y/o en donde el anticuerpo no comprende una VHCDR3 que tiene SEQ ID NO: 132 y una VLCDR3 que tiene SEQ ID NO: 146.
86. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo no comprende una región VH que tiene SEQ ID NO: 1 y una región VL que tiene SEQ ID NO: 26, y/o en donde el anticuerpo no comprende una región VH que tiene SEQ ID NO: 106 y una región VL que tiene SEQ ID NO: 118.
87. Un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende una secuencia variable de cadena liviana kappa, en la que el residuo en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT no es un residuo de serina.
88. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 85, en donde el residuo en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en glicina, alanina, valina, metionina, leucina e isoleucina.
89. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 88, en donde el residuo en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en arginina,

cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano, tirosina y valina.

90. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 88, en donde el residuo en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT es un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en glicina, valina, metionina, leucina e isoleucina.
91. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 88, en donde el residuo en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT es un residuo de leucina.
92. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo es un anticuerpo IgG.
93. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo es un anticuerpo IgG1.
94. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo es un anticuerpo como se define en cualquiera de las formas de realización 4 a 40 o 72 a 76.
95. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno, en donde el anticuerpo es un anticuerpo multiespecífico que se fija específicamente a:
 - a. un primer epítipo diana, en donde el primer epítipo diana es un epítipo de la cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T $\gamma\delta$ (TCR); y
 - b. un segundo epítipo diana.
96. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno, en donde el anticuerpo es un anticuerpo multiespecífico que se fija específicamente a:
 - a. un primer epítipo diana, en donde el primer epítipo diana es un epítipo de la cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T $\gamma\delta$ (TCR); y
 - b. un segundo epítipo diana;en donde el anticuerpo multiespecífico comprende SEQ ID NO: 385; SEQ ID NO: 386; SEQ ID NO: 387; SEQ ID NO: 314; SEQ ID NO: 393; SEQ ID NO: 394; SEQ ID NO: 395; SEQ ID NO: 397; SEQ ID NO: 388; SEQ ID NO: 315; SEQ ID NO: 316; SEQ ID NO: 378; SEQ ID NO: 379; SEQ ID NO: 380; SEQ ID NO: 382; SEQ ID NO: 383; SEQ ID NO: 384; SEQ ID NO: 393; SEQ ID NO: 396; SEQ ID NO: 398; SEQ ID NO: 399; SEQ ID NO: 401; SEQ ID NO: 402; SEQ ID

NO: 403; SEQ ID NO: 404; SEQ ID NO: 405; SEQ ID NO: 406; SEQ ID NO: 407; SEQ ID NO: 408; SEQ ID NO: 409; SEQ ID NO: 410; SEQ ID NO: 411; SEQ ID NO: 412; SEQ ID NO: 413; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 415; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 416; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 419; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 418; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 415; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 416; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 419; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 418; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 415; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 416; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 419; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 418; SEQ ID NO: 421; y SEQ ID NO: 422; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 422; SEQ ID NO: 423; y SEQ ID NO: 424; SEQ ID NO: 425; y SEQ ID NO: 426; SEQ ID NO: 421; y SEQ ID NO: 437; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 437; SEQ ID NO: 423; y SEQ ID NO: 427; SEQ ID NO: 425; y SEQ ID NO: 428; SEQ ID NO: 421; y SEQ ID NO: 429; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 429; SEQ ID NO: 423; y SEQ ID NO: 430; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 431; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 433; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 434; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 435; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 431; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 433; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 434; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 435; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 431; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 433; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 434; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 435; SEQ ID NO: 438; y SEQ ID NO: 417 o SEQ ID NO: 439 y SEQ ID NO: 420.

97. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de acuerdo con cualquiera de las formas de realización de 1 a 95, en donde el anticuerpo es un anticuerpo es un anticuerpo multiespecífico que se fija específicamente a:

a. un primer epítipo diana, en donde el primer epítipo diana es un epítipo de la cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T $\gamma\delta$ (TCR); y

b. un segundo epítipo diana;

en donde el anticuerpo multiespecífico comprende SEQ ID NO: 385; SEQ ID NO: 386; SEQ ID NO: 387; SEQ ID NO: 314; SEQ ID NO: 393; SEQ ID NO: 394; SEQ ID NO: 395; SEQ ID NO: 397; SEQ ID NO: 388; SEQ ID NO: 315; SEQ ID NO: 316; SEQ ID NO: 378; SEQ ID NO: 379; SEQ ID NO: 380; SEQ ID NO: 382; SEQ ID NO: 383; SEQ ID NO: 384; SEQ ID NO: 393; SEQ ID NO: 396; SEQ ID NO: 398; SEQ ID NO: 399; SEQ ID NO: 401; SEQ ID NO: 402; SEQ ID NO: 403; SEQ ID NO: 404; SEQ ID NO: 405; SEQ ID NO: 406; SEQ ID NO: 407; SEQ ID NO: 408; SEQ ID NO: 409; SEQ ID NO: 410; SEQ ID NO: 411; SEQ ID NO: 412; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 415; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 416; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 419;

SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 418; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 415; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 416; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 419; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 418; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 415; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 416; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 419; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 418; SEQ ID NO: 421; y SEQ ID NO: 422; 5 SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 422; SEQ ID NO: 423; y SEQ ID NO: 424; SEQ ID NO: 425; y SEQ ID NO: 426; SEQ ID NO: 421; y SEQ ID NO: 437; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 437; SEQ ID NO: 423; y SEQ ID NO: 427; SEQ ID NO: 425; y SEQ ID NO: 428; SEQ ID NO: 421; y SEQ ID NO: 429; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 429; SEQ ID NO: 423; y SEQ ID NO: 430; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 431; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 433; SEQ ID NO: 414; y 10 SEQ ID NO: 434; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 435; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 431; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 433; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 434; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 435; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 431; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 433; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 434; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 435; SEQ ID NO: 438; y SEQ ID NO: 417 o SEQ ID NO: 439 y SEQ ID NO: 420.

15 98. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 94 o la forma de realización 95, en donde el anticuerpo multiespecífico comprende SEQ ID NO: 388; SEQ ID NO: 393; SEQ ID NO: 394; SEQ ID NO: 395; SEQ ID NO: 396; SEQ ID NO: 397; SEQ ID NO: 398; SEQ ID NO: 399; SEQ ID NO: 401; SEQ ID NO: 402; SEQ ID NO: 403; SEQ ID NO: 404; SEQ ID NO: 405; SEQ ID NO: 406; SEQ ID NO: 407; 20 SEQ ID NO: 408; SEQ ID NO: 409; SEQ ID NO: 410; SEQ ID NO: 411; SEQ ID NO: 412; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 415; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 416; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 419; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 418; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 415; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 416; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 419; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 418; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 415; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 416; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 419; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 418; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 431; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 433; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 434; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 434; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 431; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 433; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 434; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 435; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 431; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 433; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 434; SEQ ID NO: 438; y SEQ ID NO: 417 o SEQ ID NO: 439 y SEQ ID NO: 420. 30

99. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de acuerdo con cualquiera de

las formas de realización 96 a 98, en donde el primer epítipo diana es un epítipo como se define en cualquiera de las formas de realización 37 a 39 o 69 a 71.

100. Un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija específicamente a una cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T $\gamma\delta$ (TCR) y compite por la fijación a la cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T $\gamma\delta$ (TCR) con un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización anteriores.

101. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo está habilitado por Fc.

102. Un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que se caracteriza porque:

- a. causa la regulación descendente de TCR en los linfocitos T V δ 1 a los que se fija;
- b. no exhibe CDC o ADCC; y
- c. no agota los linfocitos T V δ 1.

103. El anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 102, en donde el anticuerpo causa un agotamiento menor de alrededor de 30 %, menor de alrededor de 20 % o menor de alrededor de 10 % de la población de linfocitos T+ V δ 1 viable a través de ADCC y/o CDC.

104. El anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 102, en donde el anticuerpo no induce la secreción de IL-17A.

105. El anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 102, en donde el anticuerpo induce menos de alrededor de 30 %, menos de alrededor de 20 % o menos de alrededor de 10 % de la secreción de IL-17A inducida por anticuerpos CD3 equivalentes.

106. El anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 102 a 105, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este se fija a TRVD1 humana con una KD menor de alrededor de 10 nM.

107. El anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 102 a 106, en donde el

anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este se fija a TRVD1 humana con una KD menor de alrededor de 5 nM.

108. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 102 a 107, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este se fija a TRVD1 de *Macaca fascicularis* con una KD menor de
5 alrededor de 100 nM.

109. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización 108, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este se fija a TRVD1 de *Macaca fascicularis* con una KD menor de alrededor de 50 nM.

110. Un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija específicamente a una cadena variable delta 1 (V δ 1) humana de un receptor de linfocitos T (TCR) $\gamma\delta$ con una KD menor de alrededor de 10 nM.

111. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 110, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno es un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en cualquiera de
15 las formas de realización 1 a 109.

112. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización anteriores, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este se fija a una cadena variable delta 1 (V δ 1) de
20 *Macaca fascicularis* de un receptor de linfocitos T $\gamma\delta$ (TCR) con una KD menor de alrededor de 100 nM o menor de alrededor de 50 nM.

113. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este tiene una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor
25 de 50 nM, preferentemente, menor de alrededor de 10 nM.

114. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este tiene una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor
de 100 nM, preferentemente, menor de alrededor de 50 nM.

115. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al
30

antígeno de este tiene una IC₅₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM, preferentemente, menor de alrededor de 5 nM.

116. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este tiene una IC₉₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

117. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este estimula la proliferación de linfocitos T Vδ1.

118. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este se fija a TVRD1 humana con una K_D menor de alrededor de 100 nM.

119. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este se fija a TVRD1 humana con una K_D menor de alrededor de 50 nM.

120. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este se fija a TRDV1 humana con K_D menor de alrededor de 10 nM.

121. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este se fija a TRDV1 humana con K_D menor de alrededor de 5 nM.

122. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este se fija a TRDV1 humana con K_D menor de alrededor de 1 nM.

123. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este se fija a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con K_D menor de alrededor de 100 nM.

124. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con

cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este se fija a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con K_D menor de alrededor de 50 nM.

5 125. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este tiene una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 50 nM, menor de alrededor de 10 nM, menor de alrededor de 5 nM, menor de alrededor de 1 nM o menor de alrededor de 0,5 nM.

10 126. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este tiene una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM o menor de alrededor de 5 nM.

15 127. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este tiene una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM, preferentemente, menor de alrededor de 5 nM o menor de alrededor de 1 nM.

20 128. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este tiene una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM, menor de alrededor de 10 nM, menor de alrededor de 5 nM o menor de alrededor de 1 nM.

25 129. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este:

- a. se fija a TRDV1 humana (SEQ ID NO: 272 o 306) con una afinidad de fijación (K_D , por ejemplo, medida mediante resonancia de plasmones superficiales) menor de alrededor de 100 nM (preferentemente, menor de alrededor de 50 nM);
 - b. se fija opcionalmente a TRDV1 de *Macaca fascicularis* (SEQ ID NO: 308) con una
- 30 afinidad de fijación (K_D , por ejemplo, medida mediante resonancia de plasmones superficiales) menor de alrededor de 100 nM (preferentemente, menor de alrededor de 50 nM);

c. tiene una IC₅₀ para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 50 nM (preferentemente, menor de alrededor de 10 nM);

d. tiene una IC₅₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM); y

5 e. tiene una IC₉₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

130. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este:

10 a. se fija a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 100 nM (preferentemente, menor de alrededor de 50 nM);

b. se fija a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con una K_D menor de alrededor de 100 nM (preferentemente menor de alrededor de 50 nM);

15 c. tiene una IC₅₀ para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 50 nM (preferentemente, menor de alrededor de 10 nM) y una IC₉₀ para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 100 nM (menor de alrededor de 50 nM);

d. tiene una IC₅₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM); y

e. tiene una IC₉₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

20 131. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este:

a. se fija a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM);

25 b. se fija a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con una K_D menor de alrededor de 100 nM (preferentemente, menor de alrededor de 50 nM);

c. tiene una IC₅₀ para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 1 nM (preferentemente, menor de alrededor de 0,5 nM) y una IC₉₀ para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (menor de alrededor de 5 nM);

30 d. tiene una IC₅₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM); y

e. tiene una IC₉₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

132. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este:

- a. se fija a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM);
- b. se fija a TRDV1 de *Macaca fascicularis* con una K_D menor de alrededor de 50 nM;
- c. tiene una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 1 nM (preferentemente, menor de alrededor de 0,5 nM) y una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (menor de alrededor de 5 nM);
- d. tiene una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM); y
- e. tiene una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

133. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este:

- a. se fija a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM);
- b. tiene una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 50 nM (preferentemente, menor de alrededor de 10 nM);
- c. tiene una IC50 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM); y
- d. tiene una IC90 para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 50 nM.

134. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este:

- a. se fija a TRDV1 humana con una K_D menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM);
- b. tiene una IC50 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM);
- c. tiene una IC90 para la regulación descendente de TCR menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM);

d. tiene una IC₅₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 5 nM (preferentemente, menor de alrededor de 1 nM); y

e. tiene una IC₉₀ para la inactivación de células THP-1 menor de alrededor de 10 nM (preferentemente, menor de alrededor de 5 nM)

5 135. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este es un anticuerpo humano o fragmento de fijación al antígeno de este.

136. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo es un scFv, Fab, Fab', F(ab')₂,
10 Fv, dominio variable (por ejemplo, VH o VL), diacuerpo, minicuerpo o anticuerpo de longitud completa.

137. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo es un scFv o un anticuerpo de longitud completa, tal como IgG1.

15 138. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este es un anticuerpo IgA, IgD, IgE, IgG, IgM o IgY.

139. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al
20 antígeno de este es un anticuerpo IgG.

140. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este es un anticuerpo IgG1.

141. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal.
25

142. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este comprende una región VH y una región VL, en donde la región VH y VL están unidas por un ligador, tal como un ligador polipeptídico.

30 143. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 142, en donde el ligador comprende un formato (Gly4Ser)_n, donde n = 1

a 8.

144. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 142, en donde el ligador comprende un ligador $[(\text{Gly}_4\text{Ser})_n(\text{Gly}_3\text{AlaSer})_m]_p$, donde n, m y p = 1 a 8.

5 145. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 142, en donde el ligador comprende SEQ ID NO: 291.

146. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 142, en donde el ligador comprende SEQ ID NO: 291.

10 147. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este solo se fija a un epítipo en la región V de una cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$.

15 148. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este solo se fija a un epítipo dentro de los residuos de aminoácidos 1-90 de SEQ ID NO: 272, SEQ ID NO: 306 o SEQ ID NO: 308.

149. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este no se fija a un epítipo encontrado en CDR3 de una cadena V δ 1 de un TCR $\gamma\delta$.

20 150. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este no se fija a un epítipo dentro de las regiones de aminoácidos 91-105 (CDR3) de SEQ ID NO: 272.

25 151. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este se fija a un epítipo dentro de las regiones de aminoácidos

(i) 3-20 de SEQ ID NO: 272; y/o

(ii) 37-77 de SEQ ID NO: 272.

30 152. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 151, en donde el epítipo que se fija al anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno comprende uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de

aminoácidos 37-53 y/o 59-77 de SEQ ID NO: 272.

153. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 151, en donde el epítipo que se fija al anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este comprende residuos de aminoácidos 37, 42, 50, 53, 59, 64, 68, 69, 72, 73 y 77 de SEQ ID NO: 272.

154. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 151, en donde el epítipo que se fija al anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este consiste en residuos de aminoácidos 37, 42, 50, 53, 59, 64, 68, 69, 72, 73 y 77 de SEQ ID NO: 272.

155. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 151, en donde el epítipo que se fija al anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno comprende uno o más residuos de aminoácidos dentro de las regiones de aminoácidos 5-20 y/o 62-77 de SEQ ID NO: 272.

156. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 151, en donde el epítipo que se fija al anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este comprende residuos de aminoácidos 5, 9, 16, 20, 62, 64, 72 y 77 de SEQ ID NO: 272.

157. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 151, en donde el epítipo que se fija al anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este comprende residuos de aminoácidos 5, 9, 16, 20, 62, 64, 72 y 77 de SEQ ID NO: 272.

158. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el epítipo es un epítipo activador de un linfocito T $\gamma\delta$.

159. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 158, en donde la fijación del epítipo activador: (i) regula de manera descendente el TCR $\gamma\delta$; (ii) activa la desgranulación del linfocito T $\gamma\delta$; y/o (iii) promueve la inactivación mediada por linfocitos T $\gamma\delta$.

160. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 158 o 159, en donde la fijación del epítipo activador regula de manera descendente CD107a, CD25, CD69 y/o Ki67.

161. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo es un anticuerpo multiespecífico que fija específicamente una cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T (TCR) $\gamma\delta$ y un segundo antígeno, o fija dos epítomos diferentes en una cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T (TCR) $\gamma\delta$.
162. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 161, en donde el segundo antígeno es una proteína en la superficie celular.
163. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 161 o 162, en donde el segundo antígeno es un linfocito T V δ 1+.
164. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 161 o 162, en donde el segundo antígeno no es una célula V δ 1.
165. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 161 o 160 o 163, en donde el segundo antígeno está en una célula inmunitaria.
166. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 161 a 165, en donde el segundo antígeno es un antígeno de cáncer o un antígeno asociado al cáncer.
167. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 166, en donde el antígeno de cáncer o un antígeno asociado al cáncer es un antígeno asociado a tumor (TAA).
168. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 166, en donde el antígeno de cáncer o antígeno asociado al cáncer se selecciona del grupo que consiste en AFP, AKAP-4, ALK, alfafetoproteína, receptor androgénico, B7H3, BAGE, BCA225, BCAA, Bcr-abl, beta-Catenina, beta-HCG, gonadotropina coriónica humana beta, BORIS, BTAA, CA 125, CA 15-3, CA 195, CA 19-9, CA 242, CA 27,29, CA 72-4, CA-50, CAM 17,1, CAM43, anhidrasa carbónica IX, antígeno carcinoembrionario, CD22, CD33/IL3Ra, CD68\p1, CDK4, CEA, condroitín sulfato proteoglicano 4 (CSPG4), c-Met, CO-029, CSPG4, ciclina B1, proteína asociada a la ciclofilina C, CYP1B1, E2A-PRL, EGFR, EGFRvIII, ELF2M, EpCAM, EphA2, EphrinB2, antígenos del virus de Epstein Barr EBVA, ERG (gen de fusión TMPRSS2ETS), ETV6-AML, FAP, FGF-5,

- antígeno relacionado a Fos 1, Fucosil GM1, G250, Ga733\EpCAM, GAGE-1, GAGE-2, GD2, GD3, antígeno asociado al glioma, GloboH, glicolípido F77, GM3, GP 100, GP 100 (Pmel 17), H4-RET, HER-2/neu, HER-2/Neu/ErbB-2, antígeno asociado al melanoma de alto peso molecular (HMW-MAA), HPV E6, HPV E7, hTERT, HTgp-175, telomerasa transcriptasa inversa humana, idiotipo, receptor de IGF-I, IGF-II, IGH-IGK, factor de crecimiento de insulina (IGF)-I, carboxil esterasa intestinal, K-ras, LAGE-1a, LCK, AFP reactivo a la lectina, legumaína, LMP2, M344, MA-50, proteína de fijación a Mac-2, MAD-CT-1, MAD-CT-2, MAGE, MAGE A1, MAGE A3, MAGE-1, MAGE-3, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6, MART-1, MART-1/MelanA, M-CSF, condroitín sulfato proteoglicano asociado al melanoma (MCSP), mesotelina, MG7-Ag, ML-IAP, MN-CA IX, MOV18, MUC1, Mum-1, hsp70-2, MYCN, MYL-RAR, NA17, NB/70K, antígeno neuroglial 2 (NG2), elastasa de neutrófilos, nm-23H1, NuMa, NY-BR-1, NY-CO-1, NY-ESO, NY-ESO-1, NY-ESO-1, OY-TES1, p15, p16, p180erbB3, p185erbB2, p53, p53 mutante, Page4, PAX3, PAX5, PDGFR-beta, PLAC1, ácido polisiálico, antígeno tumoral de carcinoma de próstata 1 (PCTA-1), antígeno específico de la próstata, fosfatasa ácida prostática (PAP), Proteinasa3 (PR1), PSA, PSCA, PSMA, RAGE-1, Ras, Ras mutante, RCAS1, RGS5, RhoC, ROR1, RU1, RU2 (AS), SART3, SDCCAG16, sLe(a), proteína de esperma 17, SSX2, STn, survivina, TA-90, TAAL6, a TAG-72, telomerasa, tiroglobulina, Tie 2, TLP, Tn, TPS, TRP-1, TRP-2, TRP-2, TSP-180, tirosinasa, VEGF, VEGFR2, VISTA, WT1, XAGE 1, 43-9F, 5T4 y 791Tgp72.
169. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 161 a 168, en donde el anticuerpo multiespecífico es un anticuerpo biespecífico acoplador de linfocitos T.
170. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 161 a 169, en donde el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico y el segundo antígeno es CD19, Her2, EGFR, FAP α o MSLN.
171. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 161 a 170, en donde el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico y el segundo antígeno es CD19.
172. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 171, en donde el anticuerpo comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 314, SEQ ID NO: 315; SEQ ID NO: 316, SEQ ID NO: 396;

y SEQ ID NO: 397, SEQ ID NO: 421; y SEQ ID NO: 422, SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 422, SEQ ID NO: 423; y SEQ ID NO: 424.

173. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 161 a 170, en donde el anticuerpo es un anticuerpo
5 biespecífico y el segundo antígeno es Her2 (CD340).

174. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 173, en donde el anticuerpo comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 393; SEQ ID NO: 394, SEQ ID NO: 395, SEQ ID NO: 398; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 433; y SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 434; SEQ ID NO: 504
10 y SEQ ID NO: 433; y SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 434.

175. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 161 a 170, en donde el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico y el segundo antígeno es EGFR.

176. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la
15 forma de realización 175, en donde el anticuerpo comprende SEQ ID NO: 378; SEQ ID NO: 379; SEQ ID NO: 380; SEQ ID NO: 382; SEQ ID NO: 383; SEQ ID NO: 384; SEQ ID NO: 385; SEQ ID NO: 386; SEQ ID NO: 387; SEQ ID NO: 388; SEQ ID NO: 399; SEQ ID NO: 425; y SEQ ID NO: 426; SEQ ID NO: 421; y SEQ ID NO: 437; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 437; SEQ ID NO: 423; y SEQ ID NO: 427; SEQ ID NO: 425; y SEQ ID NO: 428; SEQ ID NO: 421; y
20 SEQ ID NO: 429; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 437; SEQ ID NO: 423; y SEQ ID NO: 430; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 431; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 431; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 431; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 435; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 435 o SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 435.

177. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con
25 cualquiera de las formas de realización 161 a 170, en donde el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico y el segundo antígeno es FAP α .

178. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 177, que comprende

a. una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la
30 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 458, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 459 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO: 460; y

b. una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 461, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 462 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 463;

179. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 178, que comprende además

a. una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; y

b. una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95;

180. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 177, que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 456 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 457.

181. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 180, que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40.

182. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 177 a 181, que comprende SEQ ID NO: 402.

183. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 177 a 182, en donde el anticuerpo comprende SEQ ID NO: 401; o SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 415.

184. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 161 a 170, en donde el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico y el segundo antígeno es MSLN.

185. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 184, que comprende

a. una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 466, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 467 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 468; y

b. una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 469, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 470 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 471;

186. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 185, que comprende además

a. una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; y

b. una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95;

187. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 184, que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 464 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 465.

188. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 187, que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40.

189. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 184 a 188, que comprende SEQ ID NO: 404.

190. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con

cualquiera de las formas de realización 184 a 189, en donde el anticuerpo comprende SEQ ID NO: 403; o SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 416.

191. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 161 a 165, en donde el segundo antígeno es un antígeno de cáncer o un antígeno inmunomodulador.

192. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 191, en donde el antígeno inmunomodulador puede seleccionarse del grupo que consiste en B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), B7-DC (CD273), B7-H1 (CD274), B7-H2 (CD275), B7-H3 (CD276), B7-H4 (VTCN1), B7-H5 (VISTA), BTLA (CD272), 4-1BB (CD137), CD137L, CD24, CD27, CD28, CD38, CD40, CD40L (CD154), CD54, CD59, CD70, CTLA4 (CD152), CXCL9, GITR (CD357), HVEM (CD270), ICAM-1 (CD54), ICOS (CD278), LAG-3 (CD223), OX40 (CD134), OX40L (CD252), PD-1 (CD279), PD-L1 (CD274), TIGIT, CD314, CD334, CD335, CD337 y TIM-3 (CD366).

193. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 191 o 192, en donde el segundo antígeno es una molécula estimuladora del punto de control inmunitario.

194. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 191 o 192, en donde el segundo antígeno es una molécula inhibidora del punto de control inmunitario.

195. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 191 o 192, en donde el segundo epítipo es un epítipo de PD-1, 4-1BB (CD137), OX40 o TIGIT.

196. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 191 o 192, en donde el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico y el segundo epítipo es un epítipo de PD-1.

197. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 196, que comprende

a. una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 474, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 475 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 476; y

- b. una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 477, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 478 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 479;
- 5 198. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 197, que comprende además
- a. una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos
- 10 de SEQ ID NO: 68; y
- b. una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95;
- 15 199. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 195, que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 472 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 473.
200. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la
- 20 forma de realización 199, que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40.
201. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 195 a 200, que comprende SEQ ID NO: 406.
- 25 202. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 195 a 201, en donde el anticuerpo comprende SEQ ID NO: 405; o SEQ ID NO: 438; y SEQ ID NO: 417.
203. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 191 o 192, en donde el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico y el
- 30 segundo epítipo es un epítipo de 4-1BB (CD137).
204. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la

forma de realización 203, que comprende

a. una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 482, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 483 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 484; y

b. una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 485, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 486 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 487;

10 205. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 204, que comprende además

a. una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; y

b. una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95;

20 206. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 203, que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 480 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 481.

25 207. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 206, que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40.

208. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 203 a 207, que comprende SEQ ID NO: 408.

30 209. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 203 a 208, en donde el anticuerpo comprende SEQ ID

NO: 407; o SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 418.

210. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 191 o 192, en donde el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico y el segundo epítipo es un epítipo de OX40.

5 211. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 210, que comprende

a. una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 490, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 491 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 492; y

b. una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 493, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 494 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 495;

15 212. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 211, que comprende además

a. una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; y

b. una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95;

25 213. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 210, que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 488 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 489.

30 214. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 213, que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de

aminoácidos de SEQ ID NO: 40.

215. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 210 a 214, que comprende SEQ ID NO: 410.

5 216. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 210 a 215, en donde el anticuerpo comprende SEQ ID NO: 409 o SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 419.

217. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 191 o 192, en donde el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico y el segundo epítipo es un epítipo de TIGIT.

10 218. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 217, que comprende

a. una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 498, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 499 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 500; y

15 b. una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 501, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 502 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 503;

20 219. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 218, que comprende además

a. una región variable de cadena pesada que comprende una VHCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51, una VHCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 53 y una VHCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 68; y

25 b. una región variable de cadena liviana que comprende una VLCDR1 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 79, una VLCDR2 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 80 y una VLCDR3 que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 95;

30 220. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 217, que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia

de aminoácidos de SEQ ID NO: 496 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 497.

221. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 220, que comprende una VH que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 15 y una VL que comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 40.

222. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 217 a 221, que comprende SEQ ID NO: 412.

223. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 217 a 222, en donde el anticuerpo comprende SEQ ID NO: 411 o SEQ ID NO: 439 y SEQ ID NO: 420.

224. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 161 a 223, en donde el segundo antígeno es un antígeno de cúmulo de diferenciación CD.

225. El anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con la forma de realización 224, en donde el antígeno CD se selecciona del grupo que consiste en CD1a, CD1b, CD1c, CD1d, CD1e, CD2, CD3, CD3d, CD3e, CD3g, CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD8a, CD8b, CD9, CD10, CD11a, CD11b, CD11c, CD11d, CD13, CD14, CD15, CD16, CD16a, CD16b, CD17, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD25, CD26, CD27, CD28, CD29, CD30, CD31, CD32A, CD32B, CD33, CD34, CD35, CD36, CD37, CD38, CD39, CD40, CD41, CD42, CD42a, CD42b, CD42c, CD42d, CD43, CD44, CD45, CD46, CD47, CD48, CD49a, CD49b, CD49c, CD49d, CD49e, CD49f, CD50, CD51, CD52, CD53, CD54, CD55, CD56, CD57, CD58, CD59, CD60a, CD60b, CD60c, CD61, CD62E, CD62L, CD62P, CD63, CD64a, CD65, CD65s, CD66a, CD66b, CD66c, CD66d, CD66e, CD66f, CD68, CD69, CD70, CD71, CD72, CD73, CD74, CD75, CD75s, CD77, CD79A, CD79B, CD80, CD81, CD82, CD83, CD84, CD85A, CD85B, CD85C, CD85D, CD85F, CD85G, CD85H, CD85I, CD85J, CD85K, CD85M, CD86, CD87, CD88, CD89, CD90, CD91, CD92, CD93, CD94, CD95, CD96, CD97, CD98, CD99, CD100, CD101, CD102, CD103, CD104, CD105, CD106, CD107, CD107a, CD107b, CD108, CD109, CD110, CD111, CD112, CD113, CD114, CD115, CD116, CD117, CD118, CD119, CD120, CD120a, CD120b, CD121a, CD121b, CD122, CD123, CD124, CD125, CD126, CD127, CD129, CD130, CD131, CD132, CD133, CD134,

CD135, CD136, CD137, CD138, CD139, CD140A, CD140B, CD141, CD142, CD143, CD144, CDw145, CD146, CD147, CD148, CD150, CD151, CD152, CD153, CD154, CD155, CD156, CD156a, CD156b, CD156c, CD157, CD158, CD158A, CD158B1, CD158B2, CD158C, CD158D, CD158E1, CD158E2, CD158F1, CD158F2, CD158G, CD158H, CD158I, CD158J, CD158K, CD159a, CD159c, CD160, CD161, CD162, CD163, CD164, CD165, CD166, CD167a, CD167b, CD168, CD169, CD170, CD171, CD172a, CD172b, CD172g, CD173, CD174, CD175, CD175s, CD176, CD177, CD178, CD179a, CD179b, CD180, CD181, CD182, CD183, CD184, CD185, CD186, CD187, CD188, CD189, CD190, CD191, CD192, CD193, CD194, CD195, CD196, CD197, CDw198, CDw199, CD200, CD201, CD202b, CD203c, CD204, CD205, CD206, CD207, CD208, CD209, CD210, CDw210a, CDw210b, CD211, CD212, CD213a1, CD213a2, CD214, CD215, CD216, CD217, CD218a, CD218b, CD219, CD220, CD221, CD222, CD223, CD224, CD225, CD226, CD227, CD228, CD229, CD230, CD231, CD232, CD233, CD234, CD235a, CD235b, CD236, CD237, CD238, CD239, CD240CE, CD240D, CD241, CD242, CD243, CD244, CD245, CD246, CD247, CD248, CD249, CD250, CD251, CD252, CD253, CD254, CD255, CD256, CD257, CD258, CD259, CD260, CD261, CD262, CD263, CD264, CD265, CD266, CD267, CD268, CD269, CD270, CD271, CD272, CD273, CD274, CD275, CD276, CD277, CD278, CD279, CD280, CD281, CD282, CD283, CD284, CD285, CD286, CD287, CD288, CD289, CD290, CD291, CD292, CDw293, CD294, CD295, CD296, CD297, CD298, CD299, CD300A, CD300C, CD301, CD302, CD303, CD304, CD305, CD306, CD307, CD307a, CD307b, CD307c, CD307d, CD307e, CD308, CD309, CD310, CD311, CD312, CD313, CD314, CD315, CD316, CD317, CD318, CD319, CD320, CD321, CD322, CD323, CD324, CD325, CD326, CD327, CD328, CD329, CD330, CD331, CD332, CD333, CD334, CD335, CD336, CD337, CD338, CD339, CD340, CD344, CD349, CD351, CD352, CD353, CD354, CD355, CD357, CD358, CD360, CD361, CD362, CD363, CD364, CD365, CD366, CD367, CD368, CD369, CD370 y CD371.

226. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 161 a 225, en donde el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico.

227. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 161 a 226, en donde el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico y se selecciona grupo que consiste en CrossMab, DAF (dos en uno), DAF (cuatro

en uno), DutaMab, DT-IgG, botones en ojales (KIH), botones en ojales (cadena liviana común), par de carga, intercambio de brazo Fab, SEEDcuerpo, Triomab, LUZ-Y, Fcab, $\kappa\lambda$ -cuerpo, Fab ortogonal, DVD-IgG, IgG(H)-scFv, scFv-(H)IgG, IgG(L)-scFv, scFv-(L)IgG, IgG(L,H)-Fv, IgG(H)-V, V(H)-IgG, IgG(L)-V, V(L)-IgG, KIH IgG-scFab, 2scFv-IgG, IgG-2scFv, scFv4-Ig, Zycuerpo, DVI-IgG (cuatro en uno), nanocuerpo, Nanoby-HAS, BiTE, diacuerpo, DART, TandAb, scdiacuerpo, scdiacuerpo-CH3, diacuerpo-CH3, triple cuerpo, formatos Morrison, minianticuerpo, minicuerpo, minicuerpo TriBi, scFv-CH3 KIH, Fab-scFv, scFv-CH-CL-scFv, F(ab')₂, F(ab)₂-scFv₂, scFv-KIH, Fab-scFv-Fc, HCAb tetravalente, scdiacuerpo-Fc, diacuerpo-Fc, scFv-Fc en tándem, intracuerpo, Dock and Lock, ImmTAC, HSAcuerpo, scdiacuerpo-HAS, scFv-toxina en tándem, IgG-IgG, ov-X-cuerpo, duocuerpo, mab² y scFv1-PEG-scFv₂.

228. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 161 a 227, en donde el anticuerpo es un anticuerpo biespecífico conjugado (tales como IgG₂, un scFv, scFv en tándem, F(ab')₂, un anticuerpo KiH biespecífico, anticuerpo biespecífico de formato Morrison (IgG-HC-scFv), diacuerpo, triacuerpo, minicuerpo o anticuerpo biespecífico de longitud completa.

229. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 161 a 225, en donde el anticuerpo no es un anticuerpo biespecífico.

230. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquier forma de realización anterior, en donde el anticuerpo multiespecífico es mayor de alrededor de 70 KDa.

231. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con las formas de realización 161 a 230, en donde el anticuerpo multiespecífico comprende una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 385, SEQ ID NO: 386, SEQ ID NO: 387, SEQ ID NO: 314, SEQ ID, SEQ ID NO: 394, SEQ ID NO: 395, SEQ ID NO: 397, SEQ ID NO: 402, SEQ ID NO: 404, SEQ ID NO: 406; SEQ ID NO: 408, SEQ ID NO: 410, SEQ ID NO: 412 y SEQ ID NO: 413.

232. El anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 161 a 230, en donde el anticuerpo multiespecífico comprende SEQ ID NO: 388; SEQ ID NO: 315; SEQ ID NO: 316; SEQ ID NO: 378; SEQ ID

NO: 379; SEQ ID NO: 380; SEQ ID NO: 382; SEQ ID NO: 383; SEQ ID NO: 384; SEQ ID NO: 393; SEQ ID NO: 396; SEQ ID NO: 398; SEQ ID NO: 399; SEQ ID NO: 401; SEQ ID NO: 403; SEQ ID NO: 405; SEQ ID NO: 407; SEQ ID NO: 409; SEQ ID NO: 411; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 415; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 416; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 419; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 418; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 415; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 416; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 419; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 418; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 415; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 416; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 419; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 418; SEQ ID NO: 421; y SEQ ID NO: 422; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 422; SEQ ID NO: 423; y SEQ ID NO: 424; SEQ ID NO: 425; y SEQ ID NO: 426; SEQ ID NO: 421; y SEQ ID NO: 437; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 437; SEQ ID NO: 423; y SEQ ID NO: 427; SEQ ID NO: 425; y SEQ ID NO: 428; SEQ ID NO: 421; y SEQ ID NO: 429; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 429; SEQ ID NO: 423; y SEQ ID NO: 430; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 431; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 433; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 434; SEQ ID NO: 414; y SEQ ID NO: 435; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 431; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 433; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 434; SEQ ID NO: 504 y SEQ ID NO: 435; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 431; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 433; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 434; SEQ ID NO: 505 y SEQ ID NO: 435; SEQ ID NO: 438; y SEQ ID NO: 417 o SEQ ID NO: 439 y SEQ ID NO: 420.

233. Una secuencia de polinucleótidos que codifica el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este como se define en cualquier forma de realización anterior.

234. Una secuencia de polinucleótidos que codifica el anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al anticuerpo de este que comprende una secuencia que tiene al menos 70 % de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 199 a 222, 224 a 247, 249 a 259 o 261 a 271.

235. Un vector de expresión que comprende la secuencia de polinucleótidos como se define en la forma de realización 233 o la forma de realización 234.

236. Una célula huésped que comprende la secuencia de polinucleótidos como se define en la forma de realización 233 o la forma de realización 234, o el vector de expresión como se define en la forma de realización 235, en donde de manera opcional la célula huésped es una célula huésped recombinante.

237. La célula huésped de acuerdo con la forma de realización 236, que comprende una primera secuencia de polinucleótidos que codifica una secuencia de VH y una segunda

secuencia de polinucleótidos que codifica una secuencia de VL.

238. La célula huésped de acuerdo con la forma de realización 236, que comprende un primer vector de expresión que comprende una primera secuencia de polinucleótidos que codifica una secuencia de VH y un segundo vector de expresión que comprende una segunda
5 secuencia de polinucleótidos que codifica una secuencia de VL.

239. La célula huésped de acuerdo con la forma de realización 236, que comprende un vector de expresión que comprende una primera secuencia de polinucleótidos que codifica una secuencia de VH y una segunda secuencia de polinucleótidos que codifica una secuencia de VL.

10 240. La célula huésped como se define en cualquiera de las formas de realización 236 a 239, en donde el polinucleótido o vector de expresión codifica un anclaje de membrana o dominio transmembrana fusionado al anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este se presenta en una superficie extracelular de la célula.

15 241. Un método para producir cualquier anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1 a 232, que comprenden cultivar una célula huésped de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 236 a 240 en un medio de cultivo celular.

20 242. El método de acuerdo con la forma de realización 241, que comprende además aislar el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este del medio de cultivo.

243. Un método para mutar un anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este, que comprende proporcionar un anticuerpo que comprende una cadena liviana kappa que tiene una serina en la posición 74 de acuerdo con el sistema de numeración IMGT, y la mutación de la serina a un aminoácido diferente.

25 244. El método de acuerdo con la forma de realización 243, en donde el anticuerpo es un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este.

245. El método de acuerdo con la forma de realización 243 o la forma de realización 244, en donde el anticuerpo es un anticuerpo que tiene una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a SEQ ID NO: 1 y una VL que comprende en una
30 secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica a SEQ ID NO: 26 tanto antes como después de introducir la mutación.

246. El método de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 243 a 244, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este se fija a un antígeno humano y la mutación aumenta la afinidad del anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este para un antígeno de *Macaca fascicularis* homólogo.

- 5 247. El método de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 243 a 246, en donde el anticuerpo o fragmento de fijación al antígeno de este es un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este que se fija a una cadena variable delta 1 (V δ 1) humana de un receptor de linfocitos T (TCR) $\gamma\delta$ antes y después de introducir la mutación, y el anticuerpo tiene mayor afinidad con una cadena variable delta 1 (V δ 1) de *Macaca fascicularis* de un receptor de linfocitos T (TCR) $\gamma\delta$ después de introducir la mutación.

248. Un método para preparar un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR variante o fragmento de fijación al antígeno de este que comprende proporcionar un anticuerpo parental que comprende:

- 15 a. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 26;
- b. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 106 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 118;
- c. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 273 y una VL que
20 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 282;
- d. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 274 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 283;
- e. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 275 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 284;
- 25 f. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 276 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 285;
- g. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 277 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 286;
- h. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 278 y una VL que
30 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 287;
- i. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 279 y una VL que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 288;

j. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 280 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 289;

k. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 281 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 290; o

l. una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 312 y una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 313;

y someter el anticuerpo a maduración por afinidad, en donde el anticuerpo producido tiene una afinidad mayor con una cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T $\gamma\delta$ (TCR) que el anticuerpo parental.

249. El método de acuerdo con la forma de realización 248, en donde el anticuerpo producido se fija a una cadena variable delta 1 (V δ 1) de un receptor de linfocitos T (TCR) $\gamma\delta$ con una afinidad de al menos 20 %, al menos 30 %, al menos 40 %, con mayor preferencia, al menos 50 %, al menos 100 % o, con mayor preferencia, al menos alrededor de 1000 % mayor que el anticuerpo parental, por ejemplo, como se mide según la Kd.

250. El método de acuerdo con la forma de realización 248 o la forma de realización 249, que comprende además coformular el anticuerpo producido con al menos uno o más diluyentes o portadores aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

251. Un método para preparar una composición farmacéutica que comprende proporcionar un anticuerpo preparado de acuerdo con un método de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 241 a 250 y coformular el anticuerpo con al menos uno o más diluyentes o portadores aceptables desde el punto de vista farmacéutico.

252. Un anticuerpo anti-V δ 1 o fragmento de fijación al antígeno de este preparado o preparable de acuerdo con el método de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 241 a 250.

253. Una composición farmacéutica preparada o preparable de acuerdo con el método de la forma de realización 251.

254. Una composición que comprende el anticuerpo o el fragmento de fijación al anticuerpo de este como se define en cualquiera de las formas de realización 1 a 231 o 251.

255. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o el fragmento de fijación al anticuerpo de este como se define en cualquiera de las formas de realización 1 a 231 o 251

o un diluyente o portador aceptable desde el punto de vista farmacéutico.

256. Un kit que comprende un anticuerpo anti-Vδ1 o el fragmento de fijación al anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1 a 229 o 249 o una composición farmacéutica de acuerdo con la forma de realización 253 o 255.

5 257. El kit de acuerdo con la forma de realización 256, que comprende además un agente terapéuticamente activo adicional.

258. El kit de acuerdo con la forma de realización 256 o la forma de realización 257, que comprende además instrucciones para su uso.

10 259. Un método para tratar una enfermedad o un trastorno en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1 a 231 o 251, o una composición farmacéutica de acuerdo con la forma de realización 253 o 255.

260. El método de acuerdo con la forma de realización 259, en donde la enfermedad o el trastorno es cáncer, una enfermedad infecciosa o una enfermedad inflamatoria.

15 261. El método de acuerdo con la forma de realización 259 a 260, que comprende además administrar de manera simultánea o secuencial en cualquier orden, un segundo agente al sujeto.

20 262. Un método para modular una respuesta inmunitaria en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un anticuerpo anti-Vδ1 o fragmento de fijación al anticuerpo de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1 a 231 o 251, o una composición farmacéutica de acuerdo con la forma de realización 253 o 255.

263. El método de acuerdo con la forma de realización 262, en donde el sujeto tiene cáncer, una enfermedad infecciosa o una enfermedad inflamatoria.

25 264. El método de acuerdo con la forma de realización 262 o 263, en donde modular una respuesta inmunitaria en un sujeto comprende al menos uno seleccionado del grupo que consiste en activar los linfocitos T γδ, causar o aumentar la proliferación de los linfocitos T γδ, causar o aumentar la expansión de los linfocitos T γδ, causar o aumentar la desgranulación de los linfocitos T γδ, causar o aumentar la actividad de inactivación mediada por linfocitos T γδ, causar o aumentar la citotoxicidad de los linfocitos T γδ, causar o aumentar la movilización de
30 los linfocitos T γδ, aumentar la supervivencia de los linfocitos T γδ y aumentar la resistencia al agotamiento de los linfocitos T γδ.

265. El método de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 259 a 264, en donde las células enfermas se inactivan y las células sanas se preservan.
266. El anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1 a 231 o 251, o la
5 composición farmacéutica de acuerdo con la forma de realización 253 o 25, o el kit de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 256 a 258 para su uso en medicina.
267. El anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1 a 231 o 251, o la
10 composición farmacéutica de acuerdo con la forma de realización 253 o 255, o el kit de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 256 a 258 para su uso en el tratamiento contra el cáncer, una enfermedad infecciosa o una enfermedad inflamatoria.
268. El uso de un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1 a 231 o 251 en la fabricación de un medicamento.
- 15 269. El uso de un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 1 a 231 o 251 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento contra el cáncer, una enfermedad infecciosa o una enfermedad inflamatoria.
- 20 270. El uso de un anticuerpo anti-variable delta 1 (anti-V δ 1) de TCR o fragmento de fijación al antígeno de este de acuerdo con cualquiera de las formas de realización 103 a 110, en donde el anticuerpo es un anticuerpo como se define en cualquiera de las formas de realización 1 a 101.