

ANTICUERPOS ANTI-ADGRE2 Y USOS DE LOS MISMOS

SOLICITUDES RELACIONADAS

5 **[0001]** La presente solicitud reivindica la prioridad y el beneficio de la solicitud provisional US N.º 63/179.756, presentada el 26 de abril de 2021, cuyos contenidos se incorporan en la presente por referencia en su totalidad.

LISTADO DE SECUENCIAS

10 **[0002]** La presente solicitud contiene un listado de secuencias que se presentó electrónicamente en formato ASCII y se incorpora en la presente por referencia en su totalidad. Dicha copia ASCII, creada el 19 de abril de 2022 se denomina MIL-018WO_SL.txt y tiene un tamaño de 38.304 bytes.

ANTECEDENTES

15 **[0003]** Los anticuerpos anti-ADGRE2 se unen al Receptor de Adhesión Acoplado a Proteínas G E2, antígeno ADGRE2, también conocido como EMR2, CD312, VBU o CD97. ADGRE2 se expresa en monocitos, macrófagos, células dendríticas y granulocitos. El ADGRE2 se expresa en las células cancerosas en los cánceres, incluida la leucemia mieloide aguda. ADGRE2 se une a la fracción
20 de condroitina sulfato de las cadenas de glicosaminoglicanos y promueve la adhesión celular. ADGRE2 se expresa en gran medida en las células cancerosas, incluidas las de la leucemia mieloide aguda

COMPENDIO DE LA INVENCION

25 **[0004]** La presente invención proporciona anticuerpos humanizados anti-ADGRE2 y fragmentos de unión a antígenos de los mismos, para el tratamiento

de enfermedades autoinmunes y cánceres, incluyendo leucemia, linfoma o mieloma, incluyendo, por ejemplo, leucemia mieloide aguda recidivante y refractaria. Los anticuerpos y fragmentos de los mismos de la presente invención pueden utilizarse solos, en proteínas de fusión o conjugados con al menos un agente diagnóstico y/o terapéutico o en combinación con otras modalidades de tratamiento.

[0005] En algunos aspectos, se proporciona en la presente un anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende:

- 10 (a) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

QVQLQQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAV
YPGDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAY

- 15 GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 7) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHYQQKPGAPRLLIYDTSKLA
SGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSNPLTFGQGGTKVEIK

- 20 (SEQ ID NO: 8);

(b) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLEWIGAV
YPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSISTAYMEVSRLRSDDTAVYYCARGFTAY

- 25 GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 9) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGLSPKRWIYDTSK
 LASGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
 K (SEQ ID NO: 10);

- 5 (c) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el
 80% igual a

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWIGA
 VYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTA
 YGMDYWGGGTTVTVSS (SEQ ID NO: 11) y

- 10 una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
 secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGLSPKRWIYDTSK
 LASGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
 K (SEQ ID NO: 12); o

- 15 (d) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el
 80% igual a

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWMG
 AVYPGDGDTRHTQKFGRVTMTRDTSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFT

- 20 AYGMDYWGGGTLVTVSS (SEQ ID NO: 13) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
 secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGQSPKRWIYDTSK
 LASGVPARFSGSGSGTDYFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI

- 25 K (SEQ ID NO: 14);

(e) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el
 80% igual a

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWIGA
 VYPGDGDTRHTQKFQGRVTMTADKSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARGFTA
 YGMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 15) y

- 5 una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
 secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

QIVLTQSPATLSLSPGERATLTCSASSSVSYMHYQQKPGLSPKRWIYDTSKL
 ASGVPDRFSGSGSGTDYFTIRLEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGQGTKVEIK
 (SEQ ID NO: 16);

- 10 (f) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el
 80% igual a

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLEWIGAV
 YPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAY
 GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 17) y

- 15 una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
 secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

EIVLTQSPATLSASPGERVMTSCSASSSVSYMHYQQKPG LAPRRWIYDTSK
 LASGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
 K (SEQ ID NO: 18);

- 20 (g) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el
 80% igual a

QVQLVQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAV
 YPGDGDTRHTQKFQKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAY

- 25 GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 30) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una

secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a
 EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGQSPKRWIYDTSK
 LASGVPARFSGSGSGTDYFTFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
 K (SEQ ID NO: 31).

- 5 **[0006]** En algunas formas de realización, se proporciona en la presente un anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende:

(a) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos de

- 10 QVQLQQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAV
 YPGDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAY
 GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 7) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos de

- 15 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGLAPRLLIYDTSKLA
 SGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSNPLTFGQGGTKVEIK
 (SEQ ID NO: 8);

(b) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos de

- 20 QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLEWIGAV
 YPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSISTAYMEVSRLRSDDTAVYYCARGFTAY
 GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 9) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos de

- 25 EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGLSPKRWIYDTSK
 LASGVPRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
 K (SEQ ID NO: 10);

(c) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWIGA
 VYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTA
 5 YGMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 11) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGLSPKRWIYDTSK
 LASGVDPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
 10 K (SEQ ID NO: 12); o

(d) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWMG
 AVYPGDGDTRHTQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFT
 15 AYGMDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 13) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGQSPKRWIYDTSK
 LASGVDPARFSGSGSGTDYFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
 20 K (SEQ ID NO: 14);

(e) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWIGA
 VYPGDGDTRHTQKFQGRVTMTADKSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTA
 25 YGMDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 15) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos de

QIVLTQSPATLSLSPGERATLTCSASSSVSYMHWYQQKPGLSPKRWIYDTSKL
 ASGVPDRFSGSGSGTDYFTIRLEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGQGTKVEIK
 (SEQ ID NO: 16);

- (f) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
 5 comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYFTFTNYWMQWIRQAPGQGLEWIGAV
 YPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAY
 GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 17) y

- una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
 10 secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATLSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKPGAPRRWIYDTSK
 LASGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
 K (SEQ ID NO: 18);

- (g) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
 15 comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLVQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYFTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAV
 YPGDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAY
 GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 30) y

- una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
 20 secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGQSPKRWIYDTSK
 LASGVPARFSGSGSGTDYFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
 K (SEQ ID NO: 31).

- [0007]** En algunas formas de realización, se proporciona en la presente un
 25 anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o un fragmento de unión a antígeno del
 mismo que comprende:

una región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR) 1

que comprende una secuencia de aminoácidos de GYTFTNYW (SEQ ID NO: 1), una HCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de VYPGDGDT (SEQ ID NO: 2), una HCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de ARGFTAYGMDY (SEQ ID NO: 3); y

- 5 una región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR) 1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SSVSY (SEQ ID NO: 4), una LCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de DTS (SEQ ID NO: 5) y una LCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de QQWSSNPLT (SEQ ID NO: 6).

- 10 **[0008]** En algunas formas de realización, se proporciona en la presente un anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, en donde el anticuerpo anti-ADGRE2 o fragmento del mismo se selecciona del grupo que consiste en un anticuerpo IgA, anticuerpo IgG, anticuerpo IgE, anticuerpo IgM, anticuerpo bi- o multiespecífico, fragmento Fab,
- 15 fragmento Fab', fragmento F(ab')₂, fragmento Fd', fragmento Fd, CDR aisladas o grupos de ellos; fragmento variable de cadena simple (scFv), fusión de polipéptido-Fc, anticuerpo de dominio simple, anticuerpo cameloide; anticuerpo enmascarado, producto inmunofarmacéutico modular pequeño ("SMIPsTM"), cadena simple, diacuerpo en tándem, VHH, Anticalina, Nanocuerpo, minicuerpos,
- 20 BiTE, proteína de repetición de anquirina, DARPIN, Avimer, DART, anticuerpo de tipo TCR, Adnectina, Affilina, Transcuerpo; Afficuerpo, TrimerX, MicroProteína, Fynomer, Centyrin; y KALBITOR.

- [0009]** En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo es un anticuerpo
- 25 monoclonal o un fragmento variable de cadena simple (scFv).

[0010] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o fragmento del mismo es un anticuerpo que comprende una región constante de IgG.

[0011] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo es un fragmento variable de cadena simple (scFv).

[0012] En algunas formas de realización, el scFv comprende una
5 secuencia señal, una secuencia variable de cadena pesada, un enlazador GS y una secuencia variable de cadena ligera.

[0013] En algunas formas de realización, el scFv comprende una secuencia que tiene al menos aproximadamente el 80% de identidad con:

(a) QVQLQQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLE
10 WIGAVYPGDGDTRHTQKFQKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCAR
GFTAYGMDYWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASP
GERVTMSCSASSSVSYMHYQQKSGQSPKRWIYDTSKLAGVPAFSGSGS
GTDYFTFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 19);

(b) QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLE
15 WIGAVYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSISTAYMEVSRLRSDDTAVYYCAR
GFTAYGMDYWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASP
GERVTMSCSASSSVSYMHYQQKSGLSPKRWIYDTSKLAGVPDRFSGSGS
GTDYFTFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 20);

(c) QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLE
20 WIGAVYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCAR
GFTAYGMDYWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASP
GERVTMSCSASSSVSYMHYQQKSGLSPKRWIYDTSKLAGVPDRFSGSGS
GTDYFTFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 21); o

(d) QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLE
25 WMGAVYPGDGDTRHTQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCA
RGFTAYGMDYWGQGLTVTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLS
LSPGERATLSCSASSSVSYMHYQQKPLAPRLLIYDTSKLAGIPDRFSGSG
SGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSNPLTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 22).

[0014] En algunas formas de realización, el fragmento variable de cadena simple (scFv) comprende una secuencia de:

QVQLQQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAV
 YPGDGDTRHTQKFQKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAY
 5 GMDYWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASPGERV
 MSCSASSSVSYMHYQQKSGQSPKRWIYDTSKLGSGVPRFSGSGSGTDYT
 FTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 19);

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLEWIGAV
 YPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSISTAYMEVSRLRSDDTAVYYCARGFTAY
 10 GMDYWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASPGERV
 MSCSASSSVSYMHYQQKSGLSPKRWIYDTSKLGSGVPDRFSGSGSGTDYT
 FTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 20);

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWIGA
 VYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTA
 15 YGMDYWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASPGERV
 TMSCSASSSVSYMHYQQKSGLSPKRWIYDTSKLGSGVPDRFSGSGSGTDY
 TFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 21); o

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWMG
 AVYPGDGDTRHTQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFT
 20 AYGMDYWGQGTTLTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPG
 ERATLSCSASSSVSYMHYQQKPGLAPRLIYDTSKLGSGIPDRFSGSGSGTD
 FTLISRLEPEDFAVYYCQQWSSNPLTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 22).

[0015] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado tiene una constante de disociación (K_D) que es menor que
 25 aproximadamente 10^{-8} M K_D , menor que aproximadamente 10^{-9} M K_D , menor que
 aproximadamente 10^{-10} M K_D , menor que aproximadamente 10^{-11} M K_D , menor
 que aproximadamente 10^{-12} M K_D o menor que aproximadamente 10^{-13} M K_D .

[0016] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2

humanizado tiene una EC50 de aproximadamente 1 – 100 nM.

[0017] En algunas formas de realización, la EC50 es de aproximadamente 10 – 95 nM.

[0018] En algunas formas de realización, la EC50 es de aproximadamente 25 – 75 nM.

[0019] En algunas formas de realización, se proporciona en la presente un método de tratamiento de un cáncer que comprende administrar el anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

[0020] En algunas formas de realización, el cáncer se selecciona de leucemia, linfoma y mieloma.

[0021] En algunos aspectos, una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o fragmento del mismo y un portador farmacéuticamente aceptable, en donde el anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o fragmento de anticuerpo del mismo comprende:

(a) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

QVQLQQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAV
YPGDGDRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDNAVYYCARGFTAY
GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 7) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHYQQKPLAPRLLIYDTSKLA
SGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSNPLTFGQGGTKVEIK

(SEQ ID NO: 8);

(b) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el

80% igual a

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLEWIGAV
YPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSISTAYMEVSRLRSDDTAVYYCARGFTAY
GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 9) y

- 5 una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGLSPKRWIYDTSK
LASGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
K (SEQ ID NO: 10);

- 10 (c) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el
80% igual a

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWIGA
YYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTA

- 15 YGMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 11) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGLSPKRWIYDTSK
LASGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI

- 20 K (SEQ ID NO: 12);

(d) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el
80% igual a

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWMG
AVYPGDGDTRHTQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFT

- 25 AYGMDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 13) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGQSPKRWIYDTSK
 LASGVPARFSGSGSGTDYTFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
 K (SEQ ID NO: 14);

- 5 (e) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWIGA
 YYPGDGDTRHTQKFQGRVTMTADKSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARGFTA
 YGMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 15) y

- 10 una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

QIVLTQSPATLSLSPGERATLTCSASSSVSYMHWYQQKPGLSPKRWIYDTSKL
 ASGVDPDRFSGSGSGTDYTFTIRPLEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGQGGTKVEIK
 (SEQ ID NO: 16); o

- 15 (f) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLEWIGAV
 YPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAY
 20 GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 17) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

EIVLTQSPATLSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKPGAPRRWIYDTSK
 LASGVDPDRFSGSGSGTDYTFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
 25 K (SEQ ID NO: 18); o

- (g) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que

comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

QVQLVQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAV
YPGDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSED TAVYYCARGFTAY

5 GMDYWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO: 30) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

EIVLTQSPATMSASPGERV TMSCSASSSVSYMHYQQKSGQSPKRWIYDTSK
LASGVPARFSGSGSGTDYFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGGTKLEI

10 K (SEQ ID NO: 31).

[0022] En algunas formas de realización, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o fragmento de unión a antígeno, en donde el anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o fragmento de unión a antígeno comprende:

15 (a) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAV
YPGDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSED TAVYYCARGFTAY
GMDYWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO: 7) y

20 una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHYQQKPGLAPRLLIYDTSKLA
SGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSNPLTFGQGGTKVEIK
(SEQ ID NO: 8);

25 (b) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLEWIGAV
YPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSISTAYMEVSRLRSDDTAVYYCARGFTAY

GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 9) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGLSPKRWIYDTSK

5 LASGVPDRFSGSGSGTDYTFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
K (SEQ ID NO: 10);

(c) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYFTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWIGA

10 VYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTA
YGMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 11) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGLSPKRWIYDTSK

15 LASGVPDRFSGSGSGTDYTFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
K (SEQ ID NO: 12);

(d) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYFTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWMG

20 AVYPGDGDTRHTQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFT
AYGMDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 13) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGQSPKRWIYDTSK

25 LASGVPARFSGSGSGTDYTFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
K (SEQ ID NO: 14);

(e) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWIGA
 VYPGDGDTRHTQKFGRVTMTADKSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGFTA
 YGMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 15) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
 5 secuencia de aminoácidos de

QIVLTQSPATLSLSPGERATLTCSASSSVSYMHWYQQKPGLSPKRWIYDTSKL
 ASGVPDRFSGSGSGTDYFTIRLEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGQGKVEIK
 (SEQ ID NO: 16); o

(f) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
 10 comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLEWIGAV
 YPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTAYMEVSSLRSED TAVYYCARGFTAY
 GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 17) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
 15 secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATLSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKPGLAPRRWIYDTSK
 LASGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGKLEI
 K (SEQ ID NO: 18); o

(g) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
 20 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el
 80% igual a

QVQLVQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAV
 YPGDGDTRHTQKFQKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSED TAVYYCARGFTAY
 GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 30) y

25 una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
 secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

EIVLTQSPATMSASPGERVMTMSCSASSSVSYMHWYQQKSGQSPKRWIYDTSK
 LASGVPARFSGSGSGTDYTFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGGTKLEI
 K (SEQ ID NO: 31).

[0023] En algunas formas de realización, la composición farmacéutica
 5 comprende un anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o fragmento de anticuerpo
 del mismo comprende:

una región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR) 1
 que comprende una secuencia de aminoácidos de GYTFTNYW (SEQ ID NO: 1),
 una HCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de VYPGDGDT
 10 (SEQ ID NO: 2), una HCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de
 ARGFTAYGMDY (SEQ ID NO: 3); y

una región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR) 1 que
 comprende una secuencia de aminoácidos de SSVSY (SEQ ID NO: 4), una
 LCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de DTS (SEQ ID NO: 5)
 15 y una LCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de QQWSSNPLT
 (SEQ ID NO: 6).

[0024] En algunas formas de realización, la composición farmacéutica
 comprende un anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o un fragmento de unión a
 antígeno del mismo, en donde el anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o un
 20 fragmento de unión a antígeno del mismo se selecciona del grupo que consiste
 en un anticuerpo IgA, anticuerpo IgG, anticuerpo IgE, anticuerpo IgM, anticuerpo
 bi- o multiespecífico, fragmento Fab, fragmento Fab', fragmento F(ab')₂,
 fragmento Fd', fragmento Fd, CDR aisladas o grupos de ellos; fragmento variable
 de cadena simple (scFv), fusión de polipéptido-Fc, anticuerpo de dominio simple,
 25 anticuerpo cameloide; anticuerpo enmascarado, producto inmunofarmacéutico
 modular pequeño ("SMIPs™"), cadena simple, diacuerpo en tándem, VHH,
 Anticalina, Nanocuerpo, minicuerpos, BiTE, proteína de repetición de anquirina,
 DARPIN, Avimer, DART, anticuerpo de tipo TCR, Adnectina, Affilina,

Transcuerpo; Afficuerpo, TrimerX, MicroProteína, Fynomer, Centyrin; y KALBITOR.

[0025] En algunas formas de realización, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o un fragmento de unión a
5 antígeno del mismo, en donde el anticuerpo anti-ADGRE2 o fragmento del mismo es un anticuerpo monoclonal o un fragmento variable de cadena simple (scFv).

[0026] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo es un anticuerpo que comprende una región constante de IgG.

10 **[0027]** En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo es un fragmento variable de cadena simple (scFv).

[0028] En algunas formas de realización, el scFv comprende una secuencia señal, una secuencia variable de cadena pesada, un enlazador GS y
15 una secuencia variable de cadena ligera.

[0029] En algunas formas de realización, el scFv comprende una secuencia que tiene al menos aproximadamente el 80% de identidad con:

(a) QVQLQQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLE
WIGAVYPGDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSED TAVYYCAR
20 GFTAYGMDYWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASP
GERVTMSCSASSSVSYMHWHYQQKSGQSPKRWIYDTSK LASGVPARFSGSGS
GTDYTFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 19);

(b) QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLE
WIGAVYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSISTAYMEVSRLRSDD TAVYYCAR
25 GFTAYGMDYWGQGTTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASP
GERVTMSCSASSSVSYMHWHYQQKSGLSPKRWIYDTSK LASGVPDRFSGSGS
GTDYTFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 20);

(c) QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLE

WIGAVYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTVYMEVSSLRSED TAVYYCAR
 GFTAYGMDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASP
 GERVTMSCSASSSVSYMHYQQKSGLSPKRWIYDTSKLAGVPDRFSGSGS
 GTDYTFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 21); o

- 5 (d) QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLE
 WMGAVYPGDGDTRHTQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSED TAVYYCA
 RGFTAYGMDYWGQGTTLTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLS
 LSPGERATLSCSASSSVSYMHYQQKPGLAPRLIYDTSKLAGIPDRFSGSG
 SGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSNPLTFGQGKVEIK (SEQ ID NO: 22).

10 **[0030]** En algunas formas de realización, el fragmento variable de cadena
 simple (scFV) comprende una secuencia de:

- (a) QVQLQQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLE
 WIGAVYPGDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSED TAVYYCAR
 GFTAYGMDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASP
 15 GERVTMSCSASSSVSYMHYQQKSGQSPKRWIYDTSKLAGVPARFSGSGS
 GTDYTFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 19);

- (b) QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLE
 WIGAVYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSISTAYMEVSRLRSDDTAVYYCAR
 GFTAYGMDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASP
 20 GERVTMSCSASSSVSYMHYQQKSGLSPKRWIYDTSKLAGVPDRFSGSGS
 GTDYTFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 20);

- (c) QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLE
 WIGAVYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTVYMEVSSLRSED TAVYYCAR
 GFTAYGMDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASP
 25 GERVTMSCSASSSVSYMHYQQKSGLSPKRWIYDTSKLAGVPDRFSGSGS
 GTDYTFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 21); o

- (d) QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLE
 WMGAVYPGDGDTRHTQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSED TAVYYCA

RGFTAYGMDYWGQGTLVTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLS
LSPGERATLSCSASSSVSYMHYQQKPGLAPRLLIYDTSKLASGIPDRFSGSG
SGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSNPLTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 22).

5 **[0031]** En algunas formas de realización, se proporciona en la presente una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 90% igual a cualquiera de las SEQ ID NO: 7-18.

[0032] En algunas formas de realización, se proporciona en la presente un vector que comprende la secuencia de ácidos nucleicos.

10 **[0033]** En algunas formas de realización, se proporciona en la presente una célula que comprende el vector.

[0034] En algunos aspectos, se proporciona en la presente un método de tratamiento de cáncer que comprende administrar un anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo a un sujeto que lo
15 necesita, el anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado que comprende:

(a) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

20 QVQLQQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAV
YPGDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAY
GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 7) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

25 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHYQQKPGLAPRLLIYDTSKLA
SGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSNPLTFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 8);

(b) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el

80% igual a

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLEWIGAV
YPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSISTAYMEVSRLRSDDTAVYYCARGFTAY
GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 9) y

- 5 una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGLSPKRWIYDTSK
LASGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
K (SEQ ID NO: 10);

- 10 (c) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el
80% igual a

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWIGA
VYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTA

- 15 YGMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 11) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGLSPKRWIYDTSK
LASGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI

- 20 K (SEQ ID NO: 12);

(d) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el
80% igual a

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWMG
AVYPGDGDTRHTQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFT

- 25 AYGMDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 13) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGQSPKRWIYDTSK
 LASGVPARFSGSGSGTDYTFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGKLEI
 K (SEQ ID NO: 14);

- 5 (e) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWIGA
 YYPGDGDTRHTQKFQGRVTMTADKSTSTVYMESSLRSEDVAVYYCARGFTA
 YGMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 15) y

- 10 una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

QIVLTQSPATLSLSPGERATLTCSASSSVSYMHWYQQKPGLSPKRWIYDTSKL
 ASGVDPDRFSGSGSGTDYTFTIRLEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGQGKVEIK
 (SEQ ID NO: 16); o

- 15 (f) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLEWIGAV
 YPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAY
 20 GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 17) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

EIVLTQSPATLSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKPGAPRRWIYDTSK
 LASGVDPDRFSGSGSGTDYTFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGKLEI
 25 K (SEQ ID NO: 18); o

- (g) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que

comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

QVQLVQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAV
YPGDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAY

5 GMDYWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO: 30) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 80% igual a

EIVLTQSPATMSASPGERVTMSCSASSSVSYMHWYQQKSGQSPKRWIYDTSK
LASGVPARFSGSGSGTDYFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGGTKLEI

10 K (SEQ ID NO: 31).

[0035] En algunas formas de realización, se proporciona en la presente un método de tratamiento de cáncer que comprende administrar un anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo a un sujeto que lo necesita, en donde el anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado comprende:

15 (a) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAV
YPGDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAY
GMDYWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO: 7) y

20 una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGLAPRLLIYDTSKLA
SGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSNPLTFGQGGTKVEIK
(SEQ ID NO: 8);

25 (b) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLEWIGAV
YPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSISTAYMEVSRLRSDDTAVYYCARGFTAY

GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 9) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGLSPKRWIYDTSK

5 LASGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
K (SEQ ID NO: 10);

(c) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYFTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWIGA

10 VYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTA
YGM DYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 11) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGLSPKRWIYDTSK

15 LASGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
K (SEQ ID NO: 12);

(d) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYFTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWMG

20 AVYPGDGDTRHTQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFT
AYGMDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 13) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGQSPKRWIYDTSK

25 LASGVPARFSGSGSGTDYFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
K (SEQ ID NO: 14);

(g) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWIGA
 YYPGDGDTRHTQKFVKGRVTMTADKSTSTVYMELSSLRSEDVAVYYCARGFTA
 YGMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 15) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
 5 secuencia de aminoácidos de

QIVLTQSPATLSLSPGERATLTCSASSSVSYMHYQQKPGLSPKRWIYDTSKL
 ASGVPDRFSGSGSGTDYFTIRLEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGQGTKVEIK
 (SEQ ID NO: 16); o

(h) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
 10 comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLEWIGAV
 YPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAY
 GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 17) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
 15 secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATLSASPGERVTMSCSASSSVSYMHYQQKPGGLAPRRWIYDTSK
 LASGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
 K (SEQ ID NO: 18); o

(g) una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (V_H) que
 20 comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLVQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAV
 YPGDGDTRHTQKFVKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAY
 GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 30) y

una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (V_L) que comprende una
 25 secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATMSASPGERVTMSCSASSSVSYMHYQQKSGQSPKRWIYDTSK

LASGVPARFSGSGSGTDYTFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 31).

[0036] En algunas formas de realización, se proporciona en la presente un método de tratamiento de cáncer que comprende administrar un anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo a un sujeto que lo necesita, en donde el anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado comprende:

una región determinante de complementariedad de cadena pesada (HCDR) 1 que comprende una secuencia de aminoácidos de GYTFTNYW (SEQ ID NO: 1), una HCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de VYPGDGDT (SEQ ID NO: 2), una HCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de ARGFTAYGMDY (SEQ ID NO: 3); y

una región determinante de complementariedad de cadena ligera (LCDR) 1 que comprende una secuencia de aminoácidos de SSVSY (SEQ ID NO: 4), una LCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de DTS (SEQ ID NO: 5) y una LCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de QQWSSNPLT (SEQ ID NO: 6).

[0037] En algunas formas de realización, se proporciona en la presente un método de tratamiento de cáncer que comprende administrar un anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo a un sujeto que lo necesita, en donde el anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo es un anticuerpo monoclonal o un fragmento variable de cadena simple (scFv).

[0038] En algunas formas de realización, se proporciona en la presente un método de tratamiento de cáncer que comprende administrar un anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o un fragmento de unión a antígeno del mismo a un sujeto que lo necesita, en donde el anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado o fragmento del mismo es un anticuerpo que comprende una región constante de IgG.

[0039] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2

humanizado o fragmento del mismo es un fragmento variable de cadena simple (scFv).

[0040] En algunas formas de realización, el scFv comprende una secuencia líder, una secuencia variable de cadena pesada, un enlazador GS y una
5 secuencia variable de cadena ligera.

[0041] En algunas formas de realización, el scFv comprende una secuencia que tiene al menos aproximadamente el 80% de identidad con:

(a) QVQLQQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLE
WIGAVYPGDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDNAVYYCAR
10 GFTAYGMDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASP
GERVTMSCSASSSVSYMHWYQQKSGQSPKRWIYDTSKLAGVPARFSGSGS
GTDYTFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 19);

(b) QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLE
WIGAVYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSISTAYMEVSRLRSDDNAVYYCAR
15 GFTAYGMDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASP
GERVTMSCSASSSVSYMHWYQQKSGLSPKRWIYDTSKLAGVPDRFSGSGS
GTDYTFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 20);

(c) QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLE
WIGAVYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTVYMEVSSLRSEDNAVYYCAR
20 GFTAYGMDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASP
GERVTMSCSASSSVSYMHWYQQKSGLSPKRWIYDTSKLAGVPDRFSGSGS
GTDYTFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 21); o

(d) QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLE
WMGAVYPGDGDTRHTQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDNAVYYCA
25 RGFTAYGMDYWGQGTTLTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLS
LSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPLAPRLIYDTSKLAGIPDRFSGSG
SGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSNPLTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 22).

[0042] En algunas formas de realización, el fragmento variable de cadena

simple (scFv) comprende una secuencia de:

QVQLQQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAV
YPGDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSED TAVYYCARGFTAY
GMDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASPGERV
5 MSCSASSSVSYMHWYQQKSGQSPKRWIYDTSK LASGVPARFSGSGSGTDYT
FTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 19);

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLEWIGAV
YPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSISTAYMEVSRLRSDDTAVYYCARGFTAY
GMDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASPGERV
10 MSCSASSSVSYMHWYQQKSGLSPKRWIYDTSK LASGVPDRFSGSGSGTDYT
FTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 20);

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWIGA
VYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTVYMEVSSLRSED TAVYYCARGFTA
YGMDYWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASPGERV
15 TMSCSASSSVSYMHWYQQKSGLSPKRWIYDTSK LASGVPDRFSGSGSGTDY
TFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 21); o

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWMG
AVYPGDGDTRHTQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMEVSSLRSED TAVYYCARGFT
AYGMDYWGQGTTLTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATLSLSPG
20 ERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGLAPRLLIYDTSK LASGIPDRFSGSGSGTD
FTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSNPLTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 22).

[0043] En algunas formas de realización, el cáncer se selecciona de leucemia, linfoma o mieloma.

[0044] En algunas formas de realización, el tratamiento comprende la
25 administración de uno o más agentes adicionales.

[0045] En algunas formas de realización, los uno o más agentes adicionales se seleccionan de un anticuerpo, un agente quimioterapéutico o radioterapia.

DEFINICIONES

[0046] Un o una: Los artículos “un” y “una” se utilizan aquí para referirse a uno o a más de uno (es decir, a al menos uno) del objeto gramatical del artículo. A modo de ejemplo, “un elemento” significa un elemento o más de un elemento.

- 5 **[0047]** Afinidad: Como se utiliza en el presente documento, el término “afinidad” se refiere a las características de una interacción de unión entre un resto de unión (por ejemplo, un resto de unión a antígeno (por ejemplo, el dominio variable descrito en el presente documento) y/o un resto de unión a receptor Fc (por ejemplo, la fracción de unión a FcRn descrita en el presente documento)) y
- 10 una diana (por ejemplo, un antígeno (por ejemplo, ADGRE2) y/o FcR (por ejemplo, FcRn)) y que indica la fuerza de la interacción de unión. En algunas formas de realización, la medida de afinidad se expresa como una constante de disociación (K_D). En algunas formas de realización, un resto de unión tiene una alta afinidad por una diana (por ejemplo, una K_D de menos de aproximadamente
- 15 10^{-7} M, menos de aproximadamente 10^{-8} M o menos de aproximadamente 10^{-9} M). En algunas formas de realización, un resto de unión tiene una afinidad baja por una diana (por ejemplo, una K_D de más de aproximadamente 10^{-7} M, más de aproximadamente 10^{-6} M, más de aproximadamente 10^{-5} M o más de aproximadamente 10^{-4} M). En algunas formas de realización, un resto de unión
- 20 tiene alta afinidad por una diana a un primer pH, tiene baja afinidad por la diana a un segundo pH y tiene una afinidad intermedia por la diana a un nivel de pH entre el primer pH y el segundo pH.

- [0048]** *Aproximadamente*: Tal como se utiliza en el presente documento, el término “aproximadamente”, aplicado a uno o más valores de interés, se refiere
- 25 a un valor que es similar a un valor de referencia establecido. En determinadas formas de realización, el término “aproximadamente” se refiere a un rango de valores que caen dentro del 25%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% o menos en cualquier dirección (mayor que o menor que) del valor de referencia establecido, a menos

que se indique lo contrario o sea evidente por el contexto (excepto cuando dicho número exceda el 100% de un valor posible).

[0049] *Anticuerpo:* Como se utiliza en el presente documento, el término “anticuerpo” se refiere a un polipéptido que incluye al menos una región variable de inmunoglobulina, por ejemplo, una secuencia de aminoácidos que proporciona un dominio variable de inmunoglobulina o una secuencia de dominio variable de inmunoglobulina. Por ejemplo, un anticuerpo puede incluir una región variable de cadena pesada (H) (abreviada aquí como VH), y una región variable de cadena ligera (L) (abreviada aquí como VL). En otro ejemplo, un anticuerpo incluye dos regiones variables de cadena pesada (H) y dos regiones variables de cadena ligera (L). El término “anticuerpo” abarca fragmentos de unión a antígenos de anticuerpos (por ejemplo, anticuerpos de cadena simple, fragmentos Fab, F(ab')₂, Fd, Fv y dAb), así como anticuerpos completos, por ejemplo, inmunoglobulinas intactas de los tipos IgA, IgG, IgE, IgD, IgM (así como sus subtipos). Las cadenas ligeras de la inmunoglobulina pueden ser de los tipos kappa o lambda.

[0050] *Resto de unión:* Como se utiliza en el presente documento, un “resto de unión” es cualquier molécula o parte de una molécula capaz de unirse específicamente a una diana, por ejemplo, una diana de interés (por ejemplo, un antígeno (por ejemplo, ADGRE2) y/o FcR (por ejemplo, FcRn)). Los elementos de unión incluyen, por ejemplo, anticuerpos, fragmentos de unión a antígenos, regiones Fc o fragmentos Fc de los mismos, miméticos de anticuerpos, péptidos y aptámeros.

[0051] *Fragmento de unión a antígeno o fragmento de anticuerpo del mismo* se refiere a una porción de un anticuerpo intacto. Un fragmento de unión a antígeno o fragmento de anticuerpo se refiere a una porción de un anticuerpo intacto que se une a un antígeno (por ejemplo, ADGRE2). Un fragmento de unión a antígeno puede contener las regiones variables determinantes antigénicas de un anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen, pero no se limitan a fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂ y Fv, anticuerpos lineales,

miméticos de anticuerpos, scFvs y anticuerpos de cadena simple.

[0052] *Región determinante de complementariedad (CDR)*: Una “CDR” de un dominio variable son residuos de aminoácidos dentro de la región variable que se identifican de acuerdo con las definiciones de la Kabat, Chothia, la
5 acumulación de ambos Kabat y Chothia, AbM, Contact y/o definiciones conformacionales o cualquier método de determinación de CDR bien conocido en la técnica. Las CDR de los anticuerpos pueden identificarse como las regiones hipervariables definidas originalmente por Kabat et al. Véase, por ejemplo, Kabat et al., 1992, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª ed., Public
10 Health Service, NIH, Washington D.C. Las posiciones de las CDR también pueden identificarse como las estructuras de bucle estructural descritas originalmente por Chothia et al. Véase, por ejemplo, Chothia et al., Nature 342:877-883, 1989. Otros enfoques para la identificación de las CDR incluyen la “definición AbM”, que es un compromiso entre Kabat y Chothia y se deriva
15 utilizando el software de modelado de anticuerpos AbM de Oxford Molecular (ahora Accelrys®) o la “definición de Contact” de las CDR basada en los contactos de antígeno observados, establecida en MacCallum et al., J. Mol. Biol., 262:732-745, 1996. En otro enfoque, denominado en el presente documento “definición conformacional” de las CDR, las posiciones de las CDR pueden
20 identificarse como los residuos que hacen contribuciones entálpicas a la unión del antígeno. Véase, por ejemplo, Makabe et al., Journal of Biological Chemistry, 283: 1156-1166, 2008. Otras definiciones de límites de CDR pueden no seguir estrictamente uno de los enfoques anteriores, pero sin embargo se solaparán con al menos una parte de las CDR de Kabat, aunque pueden acortarse o alargarse
25 a la luz de la predicción o los hallazgos experimentales de que residuos particulares o grupos de residuos o incluso CDR enteras no afectan significativamente a la unión al antígeno. Tal y como se utiliza en el presente documento, una CDR puede referirse a las CDR definidas por cualquier enfoque conocido en la técnica, incluyendo combinaciones de enfoques. Los métodos
30 utilizados en el presente documento pueden utilizar CDR definidas de acuerdo

con cualquiera de estos enfoques. Para cualquier realización que contenga más de una CDR, las CDR pueden definirse de acuerdo con cualquiera de las definiciones, Kabat, Chothia, extendidas, AbM, de Contact y/o conformacionales.

[0053] *Región constante:* Como se utiliza en el presente documento, la expresión “región constante” se refiere a un polipéptido que corresponde a o se deriva de, uno o más dominios de inmunoglobulina de región constante de un anticuerpo. Una región constante puede incluir cualquiera o todos los siguientes dominios de inmunoglobulina: un dominio CH1, una región bisagra, un dominio CH2, un dominio CH3 (derivado de una IgA, IgD, IgG, IgE o IgM), y un dominio CH4 (derivado de una IgE o IgM).

[0054] *Epítipo:* Tal como se utiliza aquí, un “epítipo” es un término de la técnica y se refiere a una región localizada de un antígeno a la que un anticuerpo puede unirse específicamente. Un epítipo puede ser, por ejemplo, aminoácidos contiguos de un polipéptido (epítipo lineal o contiguo) o un epítipo puede, por ejemplo, provenir de dos o más regiones no contiguas de un polipéptido o polipéptidos (epítipo conformacional, no lineal, discontinuo o no contiguo). En determinadas formas de realización, el epítipo al que se une un anticuerpo puede determinarse, por ejemplo, mediante espectroscopia de RMN, estudios de cristalografía de difracción de rayos X, ensayos ELISA, intercambio de hidrógeno/deuterio acoplado con espectrometría de masas (por ejemplo, espectrometría de masas de cromatografía líquida por electronebulización), ensayos de barrido de oligopéptidos basados en matrices, y/o mapeo de mutagénesis (por ejemplo, mapeo de mutagénesis dirigida al sitio). Para la cristalografía de rayos X, la cristalización puede realizarse utilizando cualquiera de los métodos conocidos en la técnica (por ejemplo, Giege R et al, (1994) Acta Crystallogr D Biol Crystallogr 50(Pt 4): 339-350; McPherson A (1990) Eur J Biochem 189: 1-23; Chayen NE (1997) Structure 5: 1269-1274; McPherson A (1976) J Biol Chem 251: 6300-6303). Los cristales de anticuerpo:antígeno pueden estudiarse utilizando técnicas de difracción de rayos X bien conocidas y

pueden refinarse utilizando programas informáticos conocidos en la técnica, por ejemplo, Refmac y Phenix. Los estudios de mapeo de mutagénesis pueden realizarse utilizando cualquier método conocido por un experto en la técnica. Véase, por ejemplo, Champe M et al, (1995) J Biol Chem 270: 1388-1394 y

5 Cunningham BC & Wells JA (1989) Science 244: 1081-1085 para una descripción de las técnicas de mutagénesis, incluyendo las técnicas de mutagénesis de barrido de alanina.

[0055] *Región Fc:* Como se utiliza en el presente documento, el término “región Fc” se refiere a un dímero de dos “polipéptidos Fc”, cada “polipéptido Fc”

10 que comprende la región constante de un anticuerpo excluyendo el primer dominio de inmunoglobulina de la región constante. En algunas formas de realización, una “región Fc” incluye dos polipéptidos Fc unidos por uno o más enlaces disulfuro, enlazadores químicos o enlazadores peptídicos. “Polipéptido Fc” se refiere a los dos últimos dominios de inmunoglobulina de región constante

15 de IgA, IgD e IgG y los tres últimos dominios de inmunoglobulina de región constante de IgE e IgM y también puede incluir parte o toda la bisagra flexible N-terminal a estos dominios. Para la IgG, el “polipéptido Fc” comprende los dominios de inmunoglobulina Cgamma2 (Cy2) y Cgamma3 (Cy3) y la parte inferior de la bisagra entre Cgamma1 (Cy1) y Cy2. Aunque los límites del

20 polipéptido Fc pueden variar, el polipéptido Fc de la cadena pesada de la IgG humana suele definirse como compuesto por residuos que comienzan en T223 o C226 o P230, hasta su carboxilo-terminal, en donde la numeración es según el índice UE como en Kabat et al. (1991, NIH Publication 91-3242, National Technical Information Services, Springfield, VA). Para la IgA, el polipéptido Fc

25 comprende los dominios de inmunoglobulina Calpha2 (Ca2) y Calpha3 (Ca3) y la parte inferior de la bisagra entre Calpha1 (Ca1) y Ca2. Una región Fc puede ser sintética, recombinante o generada a partir de fuentes naturales como la IVIG.

[0056] *Anticuerpos humanizados:* Tal como se utiliza en el presente documento, los anticuerpos humanizados son anticuerpos derivados de especies

no humanas cuyas secuencias proteicas se han modificado para aumentar su similitud con las variantes de anticuerpos producidas naturalmente en los seres humanos. La “humanización” suele aplicarse a los anticuerpos monoclonales desarrollados para su administración a seres humanos (por ejemplo, los anticuerpos anti-ADGRE2 desarrollados como fármacos contra el cáncer). En algunas formas de realización, la humanización se emplea cuando se desarrolla un anticuerpo específico en un sistema inmunitario no humano (como el de los ratones).

[0057] K_a : Como se usa en el presente documento, “ K_a ” se refiere a la tasa de asociación de una determinada fracción de unión y una diana para formar un complejo fracción de unión/diana.

[0058] K_d : Como se usa en el presente documento, “ K_d ” se refiere a la tasa de disociación de un determinado complejo de unión/diana.

[0059] K_D : Como se usa en el presente documento, “ K_D ” se refiere a una constante de disociación, que se obtiene de la relación entre K_d y K_a (es decir, K_d/K_a) y se expresa como una concentración molar (M). Los valores de K_D pueden determinarse mediante métodos bien establecidos en la técnica, por ejemplo, utilizando la resonancia de plasmón de superficie o utilizando un sistema de biosensor como un sistema Biacore®.

[0060] *Referencia*: Una entidad, sistema, cantidad, conjunto de condiciones, etc. de “referencia” es aquella con la que se compara una entidad, sistema, cantidad, conjunto de condiciones, etc. de prueba como se describe en la presente. Por ejemplo, en algunas formas de realización, un anticuerpo de “referencia” es un anticuerpo de control que no está diseñado como se describe en la presente.

[0061] *Unión selectiva*: Como se usa en el presente documento, “unión selectiva”, “se une selectivamente” “unión específica” o “se une específicamente” se refiere, con respecto a un resto de unión y una diana, a la asociación

preferente de un resto de unión a una diana y no a una entidad que no es la diana. Puede darse un cierto grado de unión inespecífica entre un resto de unión y una entidad que no es la diana. En algunas formas de realización, un resto de unión se une selectivamente a una diana si la unión entre el resto de unión y la diana es mayor que 2 veces, mayor que 5 veces, mayor que 10 veces o mayor que 100 veces en comparación con la unión del resto de unión y una entidad que no es la diana. En algunas formas de realización, un resto de unión se une selectivamente a una diana si la afinidad de unión es menos de aproximadamente 10^{-5} M, menos de aproximadamente 10^{-6} M, menos de aproximadamente 10^{-7} M, menos de aproximadamente 10^{-8} M o menos de aproximadamente 10^{-9} M. En algunas formas de realización, una molécula que se une específicamente a un antígeno puede unirse a otros péptidos o polipéptidos, generalmente con menor afinidad como se determina por, por ejemplo inmunoensayos, BIACORE®, instrumento KinExA 3000 (Sapidyne Instruments, Boise, ID), u otros ensayos conocidos en la técnica.

[0062] *Fragmento variable de cadena simple (scFv):* Como se usa en el presente documento, la expresión “fragmento variable de cadena simple” o “scFv” se refiere a una proteína de fusión de las regiones variables de las cadenas pesada (V_H) y ligera (V_L) de una inmunoglobulina (por ejemplo, de ratón o humana) unidas covalentemente para formar un heterodímero $V_H:V_L$. Las cadenas pesadas (V_H) y ligeras (V_L) están unidas directamente o por un enlazador que codifica el péptido (por ejemplo, 10, 15, 20, 25 aminoácidos), que conecta el N-terminal de la V_H con el C-terminal de la V_L o el C-terminal de la V_H con el N-terminal de la V_L . El enlazador suele ser rico en glicina para mayor flexibilidad, así como en serina o treonina para mayor solubilidad. El enlazador puede unir la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera del dominio extracelular de unión a antígeno. Ejemplos no limitantes de enlazadores se divulgan en Shen et al., Anal. Chem. 80(6):1910-1917 (2008) y WO 2014/087010, cuyo contenido se incorpora por referencia en su totalidad.

[0063] *Sujeto*: El término “sujeto”, tal y como se utiliza aquí, significa cualquier sujeto para el que se desea un diagnóstico, un pronóstico o una terapia. Por ejemplo, un sujeto puede ser un mamífero, por ejemplo, un humano o un primate no humano (como un simio, un mono, un orangután o un chimpancé), un
5 perro, un gato, un conejillo de indias, un conejo, una rata, un ratón, un caballo, un bovino o una vaca.

[0064] *Diana*: Como se usa en el presente documento, una “diana” es cualquier molécula unida específicamente por un resto de unión de un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En algunas formas de realización,
10 una diana es un antígeno descrito en el presente documento (por ejemplo, ADGRE2). En algunas formas de realización, una diana es un FcR (por ejemplo, FcRn). Los términos “primera diana” y “segunda diana” se utilizan en el presente documento para referirse a moléculas de dos especies moleculares distintas, en lugar de dos moléculas de la misma especie molecular. Por ejemplo, en algunas
15 formas de realización, una primera diana es una proteína sérica y una segunda diana es el FcRn.

[0065] *Cantidad terapéuticamente eficaz*: Como se usa en el presente documento, el término “cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a una cantidad de una molécula terapéutica (por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2
20 descrito en el presente documento) que confiere un efecto terapéutico a un sujeto tratado, con una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico. El efecto terapéutico puede ser objetivo (es decir, medible mediante alguna prueba o marcador) o subjetivo (es decir, el sujeto da una indicación de o siente un efecto). En particular, la “cantidad terapéuticamente
25 eficaz” se refiere a una cantidad de una molécula o composición terapéutica eficaz para tratar, mejorar o prevenir una enfermedad o afección particular o para mostrar un efecto terapéutico o preventivo detectable, como por ejemplo, mejorar los síntomas asociados con la enfermedad, prevenir o retrasar la aparición de la enfermedad, y/o también disminuir la gravedad o la frecuencia de los síntomas

- de la enfermedad. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede administrarse en un régimen de dosificación que puede comprender múltiples dosis unitarias. Para cualquier molécula terapéutica concreta, una cantidad terapéutica eficaz (y/o una dosis unitaria adecuada dentro de un régimen de dosificación eficaz) puede
- 5 variar, por ejemplo, en función de la vía de administración o de la combinación con otros agentes farmacéuticos. Además, la cantidad terapéutica eficaz (y/o la dosis unitaria) para un sujeto concreto puede depender de diversos factores, como el trastorno que se está tratando y la gravedad del trastorno; la actividad del agente farmacéutico específico empleado; la composición específica
- 10 empleada; la edad, el peso corporal, el estado general de salud, el sexo y la dieta del sujeto; el momento de la administración, la vía de administración, y/o la tasa de excreción o el metabolismo de la molécula terapéutica específica empleada; la duración del tratamiento; y factores similares, como es bien sabido en el ámbito de la medicina.
- 15 **[0066]** *Tratamiento:* Como se usa en el presente documento, el término “tratamiento” (también “tratar” o “que trata”) se refiere a cualquier administración de una molécula terapéutica (por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento) que alivia parcial o completamente, mejora, alivia, inhibe, retrasa la aparición, reduce la gravedad y/o reduce la incidencia de uno o
- 20 más síntomas o características de una enfermedad, trastorno y/o afección particular. Dicho tratamiento puede aplicarse a un sujeto que no presenta signos de la enfermedad, el trastorno y/o la afección en cuestión y/o a un sujeto que solo presenta signos tempranos de la enfermedad, el trastorno y/o la afección. Alternativa o adicionalmente, dicho tratamiento puede ser de un sujeto que
- 25 exhibe uno o más signos establecidos de la enfermedad, trastorno y/o condición relevante.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0067] Los dibujos son solo para fines de ilustración; no para limitación.

[0068] La FIG. 1 representa una tabla que muestra el número de residuos cambiados en los anticuerpos ADGRE2 humanizados en relación con la secuencia de referencia del ratón. La tabla también muestra el número de residuos diferentes de la secuencia de la línea germinal.

5 **[0069]** La FIG. 2 representa una tabla que muestra el número de residuos cambiados en los anticuerpos ADGRE2 humanizados en relación con la secuencia de referencia del ratón. La tabla también muestra el número de residuos diferentes de la secuencia de la línea germinal.

[0070] Las FIG. 3-1. FIG 3-2 y FIG 3-3 muestran proyecciones
10 bidimensionales para una secuencia VH de anticuerpo de ejemplo. La secuencia de aminoácidos se muestra formando nueve hebras β antiparalelas del pliegue de la inmunoglobulina. El término N a C de la secuencia primaria se traza desde la parte superior izquierda a la inferior derecha. La FIG. divulga SEQ ID NOS 39-40, 43, 41-42, y 44, respectivamente, en orden de aparición.

15

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0071] La presente divulgación se basa, en parte, en el descubrimiento de anticuerpos de ingeniería y fragmentos de unión a antígenos de los mismos que exhiben unión al receptor E2 acoplado a proteína G de adhesión, ADGRE2 (por
20 ejemplo, ADGRE2 humano). En algunas formas de realización, se presenta en el presente documento un anticuerpo anti-ADGRE2 humanizado y fragmentos del mismo. ADGRE2, también conocido como EMR2, CD312, VBU o CD97, es un receptor de superficie celular que es miembro de la familia de receptores de adhesión acoplados a proteínas G (GPCR). ADGRE2 se une al resto de
25 condroitina sulfato de las cadenas de glicosaminoglicanos y promueve la adhesión celular.

[0072] ADGRE2 es expresado por monocitos, macrófagos, células dendríticas y granulocitos, desempeñando un papel en la quimiotaxis, la adhesión

celular y la degranulación. En los macrófagos, ADGRE2 promueve la liberación de citoquinas inflamatorias, incluyendo IL8 y TNF, señalizando a través de proteínas G.

- 5 **[0073]** ADGRE2 se expresa en gran medida en las células cancerosas, incluyendo por ejemplo en la leucemia mieloide aguda recidivante y refractaria. En algunas formas de realización, la inhibición de ADGRE2 se utiliza para tratar cánceres. En algunas formas de realización, la inhibición de ADGRE2 se utiliza para tratar la leucemia mieloide aguda recidivante y refractaria.

Anticuerpos

- 10 **[0074]** El anticuerpo anti-ADGRE2 se une al antígeno ADGRE2. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 se une a ADGRE2 humano. ADGRE2 está descrito en la técnica y se describe, por ejemplo, en la referencia de secuencia Uniprot Q9UHX3-1.

- 15 **[0075]** En algunas formas de realización, ADGRE2 humano comprende un dominio 1 tipo EGF, un dominio 2 tipo EGF, un dominio 3 tipo EGF, un dominio 4 tipo EGF, un dominio 5 tipo EGF y un dominio GPS.

- 20 **[0076]** Un anticuerpo ADGRE2 descrito en el presente documento puede ser una inmunoglobulina, un anticuerpo de cadena pesada, un anticuerpo de cadena ligera, un anticuerpo basado en LRR, u otro andamiaje proteico con propiedades similares a las de los anticuerpos, así como otro resto de unión inmunológico conocido en la técnica, incluyendo, por ejemplo un Fab, Fab', Fab'2, Fab₂, Fab₃, F(ab')₂, Fd, Fv, Feb, scFv, SMIP, anticuerpo, diacuerpo, triacuerpo, tetracuerpo, minicuerpo, maxicuerpo, tandab, DVD, BiTe, TandAb o similares o cualquier combinación de los mismos. Las estructuras de las subunidades y las
- 25 configuraciones tridimensionales de las diferentes clases de anticuerpos son conocidas en la técnica.

- [0077]** Un anticuerpo puede ser una molécula de inmunoglobulina de cuatro cadenas polipeptídicas, por ejemplo, dos cadenas pesadas (H) y dos

cadenas ligeras (L). Una cadena pesada puede incluir un dominio variable de cadena pesada y un dominio constante de cadena pesada. Un dominio constante de cadena pesada puede incluir regiones CH1, bisagra, CH2, CH3 y en algunos casos CH4. Una región constante de cadena pesada adecuada puede derivarse de cualquier inmunoglobulina (por ejemplo, IgA, IgG o IgE). En algunas formas de realización, una región constante de cadena pesada adecuada puede derivarse de IgG1, IgG2 o IgG4. En algunas formas de realización, una región constante de cadena pesada adecuada se deriva de IgG1. Una cadena ligera puede incluir un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera. Un dominio constante de cadena ligera puede incluir una cadena ligera kappa o una cadena ligera lambda. Un dominio variable de cadena pesada de una cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera de una cadena ligera pueden subdividirse típicamente en regiones de variabilidad, denominadas regiones determinantes de la complementariedad (CDR), intercaladas con regiones que están más conservadas, denominadas regiones marco (FR). Estos dominios variables de cadena pesada y cadena ligera pueden incluir cada uno tres CDR y cuatro regiones marco, dispuestas desde el amino-terminal al carboxilo-terminal en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4, una o más de las cuales pueden ser diseñadas como se describe en la presente. La asignación de aminoácidos a cada dominio se ajusta a las definiciones de Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 y 1991)) o Chothia & Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987); Chothia et al. Nature 342:878-883 (1989). Como se utiliza en el presente documento, se hace referencia a las CDR para cada una de las cadenas pesadas (HCDR1, HCDR2, HCDR3) y ligeras (LCDR1, LCDR2, LCDR3).

[0078] Las formas de realización de la invención incluyen anticuerpos que comprenden las CDR encontradas en los dominios VH y VL descritos en el presente documento que se identifican utilizando sistemas de numeración convencionales, tales como los sistemas de numeración IMGT, Kabat y Chothia.

Estos sistemas de numeración son bien conocidos en la técnica. En determinadas formas de realización, las CDR se identifican o numeran de acuerdo con el sistema de numeración IMGT.

5 **Anticuerpos de ejemplo**

[0079] En algunas formas de realización, los anticuerpos anti-ADGRE2 o fragmentos de los mismos descritos en el presente documento comprenden una región variable de cadena pesada común.

[0080] En determinadas formas de realización, las CDR se identifican de acuerdo con el sistema de numeración IMGT.

[0081] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 comprende secuencias de región determinante de complementariedad (CDR) de región variable de cadena pesada (VH): VH CDR1: GYTFTNYW (SEQ ID NO: 1), VH CDR2: YYPGDGDT (SEQ ID NO: 2) y VH CDR3: ARGFTAYGMDY (SEQ ID NO: 3).

[0082] En algunas formas de realización, la variable de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos de QVQLQQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAV YPGDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSED TAVYYCARGFTAY GMDYWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO: 7).

[0083] En algunas formas de realización, la variable de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos de QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLEWIGAV YPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSISTAYMEVSRLRSDD TAVYYCARGFTAY GMDYWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO: 9).

[0084] En algunas formas de realización, la variable de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWIGA
VYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTA
YGMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 11).

[0085] En algunas formas de realización, la variable de cadena pesada
5 comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWMG
AVYPGDGDTRHTQKFQGRVTMTADTSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFT
AYGMDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 13).

[0086] En algunas formas de realización, la variable de cadena pesada
10 comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTNYWMQWVRQAPGQGLEWIGA
VYPGDGDTRHTQKFQGRVTMTADKSTSTVYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTA
YGMDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 15).

[0087] En algunas formas de realización, la variable de cadena pesada
15 comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPGQGLEWIGAV
YPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAY
GMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 17).

[0088] En algunas formas de realización, la variable de cadena pesada
20 comprende una secuencia de aminoácidos de

QVQLVQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAV
YPGDGDTRHTQKFQKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAY
GMDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO: 30).

[0089] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2
25 comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que tiene al menos
aproximadamente el 85%, aproximadamente el 90%, aproximadamente el 91%,
aproximadamente el 92%, aproximadamente el 93%, aproximadamente el 94%,
aproximadamente el 95%, aproximadamente el 96%, aproximadamente el 97%,

aproximadamente el 98% o aproximadamente el 99% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 7, 9, 11, 13, 15, 17 o 30.

[0090] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 comprende una secuencia de aminoácidos de cadena pesada que tiene al menos
 5 aproximadamente el 85%, aproximadamente el 90%, aproximadamente el 91%, aproximadamente el 92%, aproximadamente el 93%, aproximadamente el 94%, aproximadamente el 95%, aproximadamente el 96%, aproximadamente el 97%, aproximadamente el 98% o aproximadamente el 99% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 7, 9, 11, 13, 15, 17 o 30 mientras también incluyen una o más
 10 de las secuencias V_H CDR1, vHCDR2 y/o vHCDR3 descritas en la presente.

[0091] En algunas formas de realización, los anticuerpos manipulados por ingeniería comprenden una secuencia de aminoácidos de cadena pesada igual a SEQ ID NO: 7, 9, 11, 13, 15, 17 o 30. En determinadas formas de realización, V_H comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos
 15 aproximadamente el 80% (por ejemplo, al menos aproximadamente el 85%, al menos aproximadamente el 90% o al menos aproximadamente el 95%) igual u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 7, 9, 11, 13, 15, 17 o 30. Por ejemplo, la V_H comprende una secuencia de aminoácidos que es aproximadamente el 80%, aproximadamente el 81%, aproximadamente
 20 el 82%, aproximadamente el 83%, aproximadamente el 84%, aproximadamente el 85%, aproximadamente el 86%, aproximadamente el 87%, aproximadamente el 88%, aproximadamente el 89%, aproximadamente el 90%, aproximadamente el 91%, aproximadamente el 92%, aproximadamente el 93%, aproximadamente el 94%, aproximadamente el 95%, aproximadamente el 96%, aproximadamente
 25 el 97%, aproximadamente el 98%, aproximadamente el 99% o aproximadamente el 100% igual u homóloga a la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 7, 9, 11, 13, 15, 17 o 30. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 comprende no más de 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 o 2 sustituciones de

aminoácidos respecto de SEQ ID NO: 7, 9, 11, 13, 15, 17 o 30.

[0092] En algunas formas de realización, la variable de la cadena pesada del anti-ADGRE2 está codificada por un polinucleótido que comprende la secuencia de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos del
5 ADGRE2 humanizado.

[0093] Como comprenderán los expertos en la técnica, cualquier secuencia de CDR de cadena pesada puede combinarse fácilmente, por ejemplo, mediante técnicas de biología molecular, con cualquier otra secuencia o dominio de anticuerpo proporcionado en el presente documento o conocido de otro modo
10 en la técnica, incluidas cualesquiera regiones marco, CDR, o dominios constantes, o porciones de los mismos como se divulga en el presente documento o se conoce de otro modo en la técnica, que puedan estar presentes en un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo de cualquier formato como se divulga en el presente documento o se conoce de otro modo en
15 la técnica.

[0094] En varios anticuerpos de ingeniería descritos en el presente documento, un dominio constante de cadena pesada puede ser de cualquier clase (o subclase). En diversos anticuerpos de ingeniería descritos en el presente documento, un dominio constante de cadena pesada puede incluir la secuencia
20 de aminoácidos de una o más de las clases IgG, IgM, IgA, IgD o IgE, incluyendo subclases tales como IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2. En diversas formas de realización, un dominio constante de los anticuerpos de ingeniería descritos en el presente documento puede incluir una mezcla de dos o más clases (o subclases) de dominio constante de cadena pesada de inmunoglobulina. Por
25 ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 puede incluir una primera porción de un dominio constante que tiene una secuencia de un dominio constante de inmunoglobulina seleccionado de un dominio constante de clase IgG, IgM, IgA, IgD, o IgE y una segunda porción de un dominio constante que tiene una secuencia de un dominio constante de inmunoglobulina diferente de la primera y

- seleccionado de un dominio constante de clase IgG, IgM, IgA, IgD, o IgE. En algunos casos, un dominio constante de un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento puede incluir una mezcla de dos o más subclases de una clase particular de dominio constante, por ejemplo una primera porción de un
- 5 dominio constante que tiene una secuencia de un dominio constante de inmunoglobulina seleccionado de una subclase de dominio constante IgG1, IgG2, IgG3, o IgG4 y una segunda porción de un dominio constante que tiene una secuencia de un dominio constante de inmunoglobulina diferente de la primera y seleccionado de una subclase de dominio constante IgG1, IgG2, IgG3, o IgG4.
- 10 En algunas formas de realización particulares, un dominio constante incluye todo o una porción de un dominio constante IgG2 y todo o una porción de un dominio constante IgG4.

- [0095]** En algunos casos, un anticuerpo anti-ADGRE2 incluye una región constante del anticuerpo, una región Fc o un fragmento Fc que muestra una unión
- 15 alterada (en comparación con una región constante de referencia) a uno o más receptores Fc (por ejemplo, FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIB, FcγRIIIA, FcγRIIIB, FcγRIV, o receptor FcRn). En algunas formas de realización, una región constante, región Fc o fragmento Fc se diseña para que se una a una diana (por ejemplo, un receptor FcRn) de una manera alterada (por ejemplo, de una manera sensible al
- 20 pH (por ejemplo, de una manera más o menos sensible al pH) y/o una unión disminuida o aumentada) en relación con una región constante, región Fc o fragmento Fc de referencia. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 incluye una región constante del anticuerpo, una región Fc o un fragmento Fc que muestra una unión disminuida (en comparación con una región
- 25 constante de referencia) a uno o más receptores Fcγ (por ejemplo, FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIB, FcγRIIIA, FcγRIIIB, o FcγRIV). En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 incluye una región constante del anticuerpo, una región Fc o un fragmento Fc que presenta una mayor unión al receptor FcRn (en comparación con una región constante de referencia) a pH
- 30 sérico y/o a pH intracelular.

[0096] Por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 puede incluir una región constante, región Fc o fragmento Fc de un anticuerpo IgG diseñado para incluir una adición, supresión o sustitución de aminoácidos de uno o más de los residuos de aminoácidos 251-256, 285-290, 308-314, 385-389 y 428-436 (numeración de Kabat (Kabat et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH)). Sin querer estar limitado por la teoría, se cree que uno o más de estos aminoácidos de la región constante, de la región Fc o del fragmento Fc median la interacción con un receptor Fc, por ejemplo, FcRn. En algunas formas de realización, uno o más de estos aminoácidos divulgados está sustituido por histidina, arginina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, serina, treonina, asparagina, o glutamina. En algunas formas de realización, un residuo no histidina es sustituido por un residuo histidina. En algunas formas de realización, un residuo de histidina es sustituido por un residuo de no histidina.

[0097] En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 incluye una región constante, región Fc o fragmento Fc de una IgG anticuerpo que tiene modificaciones de aminoácidos en una o más de las posiciones 308, 309, 311, 312 y 314, más específicamente, que tiene sustituciones en una o más de las posiciones 308, 309, 311, 312 y 314 con treonina, prolina, serina, ácido aspártico y leucina respectivamente. En algunas formas de realización, los residuos en una o más de las posiciones 308, 309 y 311 están sustituidos con isoleucina, prolina y ácido glutámico, respectivamente. En otras formas de realización, los residuos en una o más de las posiciones 308, 309, 311, 312 y 314, están sustituidos con treonina, prolina, serina, ácido aspártico y leucina, respectivamente.

[0098] En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 incluye una región constante, región Fc o fragmento Fc de una IgG anticuerpo que tiene modificaciones de aminoácidos en una o más de las posiciones 251, 252, 254, 255 y 256, más específicamente, que tiene sustituciones en una o más de estas posiciones. En algunas formas de realización, el residuo 251 está

sustituido con leucina o arginina, el residuo 252 está sustituido con leucina, tirosina, fenilalanina, serina, triptófano o treonina, el residuo 254 está sustituido con treonina o serina, el residuo 255 está sustituido por leucina, glicina, isoleucina o arginina, y/o el residuo 256 está sustituido por serina, fenilalanina, arginina, glutamina, ácido glutámico, ácido aspártico, alanina, asparagina o treonina. En algunas formas de realización, el residuo 251 está sustituido por leucina, el residuo 252 está sustituido por tirosina o leucina, el residuo 254 está sustituido por treonina o serina, y/o el residuo 255 está sustituido por arginina. En otras formas de realización, el residuo 252 está sustituido por fenilalanina y/o el residuo 256 está sustituido por ácido aspártico. En algunas formas de realización, el residuo 251 está sustituido con leucina, el residuo 252 está sustituido con tirosina, el residuo 254 está sustituido con treonina o serina, y/o el residuo 255 está sustituido con arginina.

[0099] En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 incluye una región constante, región Fc o fragmento Fc de una IgG anticuerpo que tiene modificaciones de aminoácidos en una o más de las posiciones 428, 433, 434, 435 y 436, más específicamente, que tiene sustituciones en una o más de estas posiciones. En algunas formas de realización, el residuo 428 está sustituido con metionina, treonina, leucina, fenilalanina, o serina, el residuo 433 está sustituido con lisina, arginina, serina, isoleucina, prolina, glutamina, o histidina, el residuo 434 está sustituido por fenilalanina, tirosina o histidina, el residuo 435 está sustituido por tirosina, y/o el residuo 436 está sustituido por histidina, asparagina, arginina, treonina, lisina, metionina o treonina. En algunas formas de realización, los residuos en una o más posiciones 433, 434, 435 y 436 están sustituidos con lisina, fenilalanina, tirosina e histidina, respectivamente. En algunas formas de realización, el residuo 428 está sustituido por metionina y/o el residuo 434 está sustituido por tirosina.

[0100] En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 incluye una región constante, región Fc o fragmento Fc de una IgG anticuerpo

que tiene modificaciones de aminoácidos en una o más de las posiciones 385, 386, 387 y 389, más específicamente, que tiene sustituciones en una o más de estas posiciones. En algunas formas de realización, el residuo 385 está sustituido con arginina, ácido aspártico, serina, treonina, histidina, lisina, o alanina, el
5 residuo 386 está sustituido con treonina, prolina, ácido aspártico serina, lisina, arginina, isoleucina, o metionina, el residuo 387 está sustituido por arginina, histidina, serina, treonina, alanina, o prolina y/o el residuo 389 está sustituido por prolina o serina. En algunas formas de realización, los residuos en una o más de las posiciones 385, 386, 387 y 389 están sustituidos con arginina, treonina,
10 arginina y prolina, respectivamente. En algunas formas de realización, los residuos en una o más de las posiciones 385, 386 y 389 están sustituidos por ácido aspártico, prolina y serina, respectivamente.

[0101] En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 incluye una región constante, una región Fc o un fragmento Fc de una IgG
15 anticuerpo que tiene una o más de las siguientes sustituciones leucina en el residuo 251, tirosina o leucina en el residuo 252, treonina o serina en el residuo 254, arginina en el residuo 255, treonina en el residuo 308, prolina en el residuo 309, serina en el residuo 311, ácido aspártico en el residuo 312, leucina en el residuo 314 arginina en el residuo 385, treonina en el residuo 386, arginina en el
20 residuo 387, prolina en el residuo 389, metionina en el residuo 428, lisina en el residuo 433, fenilalanina o tirosina en el residuo 434, tirosina en la posición 435, y/o tirosina en la posición 436. Otras sustituciones de aminoácidos que pueden incluirse en una región constante, una región Fc o un fragmento Fc incluyen las descritas en, por ejemplo, las patentes US Nros. 6.277.375, 8.012.476 y
25 8.163.881.

[0102] En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento incluye un dominio constante de la cadena pesada que incluye la mutación Ala-Ala descrita en, por ejemplo, publicaciones PCT Nros. WO 94/28027 y WO 98/47531; y Xu et al. (2000) Cell Immunol 200:16-

26. Así, en algunas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 con una o más mutaciones dentro de la región constante de la cadena pesada, incluyendo la mutación Ala-Ala, tiene una función efectora reducida o nula. Según estas formas de realización, la región constante de un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento puede comprender una sustitución a una alanina en la posición 234 y/o una mutación a una alanina en la posición 235 (numeración EU).

[0103] Como comprenderán los expertos en la técnica, cualquier secuencia de dominio constante de cadena pesada de este tipo puede combinarse fácilmente, por ejemplo, mediante técnicas de biología molecular, con cualquier otra secuencia o dominio de anticuerpo proporcionado en el presente documento o conocido de otro modo en la técnica, incluidas cualesquiera regiones marco, CDR, o dominios constantes, o porciones de los mismos según se divulga en el presente documento o se conoce de otro modo en la técnica, que puedan estar presentes en un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo de cualquier formato según se divulga en el presente documento o se conoce de otro modo en la técnica.

[0104] La presente invención proporciona adicionalmente un anticuerpo anti-ADGRE2 o fragmento del mismo que comprende diversas secuencias especificadas en una o más regiones variables de cadena ligera, que incluyen en las regiones determinantes de complementariedad de cadena ligera LCDR1-3. En diversas formas de realización, se proporcionan moléculas de regiones variables de cadena ligera especificadas con secuencias de cadena pesada como se analiza en la presente. En determinadas formas de realización, las CDR se identifican de acuerdo con el sistema de numeración IMGH.

[0105] De este modo, en un aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-ADGRE2 o fragmento del mismo que comprende una región variable de cadena ligera con secuencias de región determinante de complementariedad (CDR) de SSVSY (SEQ ID NO: 4), una LCDR2 que

comprende una secuencia de aminoácidos de DTS (SEQ ID NO: 5) y una LCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de QQWSSNPLT (SEQ ID NO: 6).

5 **[0106]** En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 o fragmento del mismo comprende una región variable de cadena ligera de inmunoglobulina (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 90% igual a SEQ ID NO: 8, 10, 12, 14, 16, 18 o 31 y una región variable de cadena pesada de inmunoglobulina (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 90% igual
10 a SEQ ID NO: 7, 9, 11, 13, 15, 17 o 30.

[0107] En algunas formas de realización, la región VL comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos aproximadamente el 95% igual a SEQ ID NO: 8, 10, 12, 14, 16, 18 o 31.

15 **[0108]** En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 o fragmento del mismo comprende una región variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPG LAPRLLIYDTSKLA
SGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSNPLTFGQGTKVEIK
(SEQ ID NO: 8).

20 **[0109]** En algunas formas de realización, la variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSG LSPKRWIYDTSK
LASGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI
K (SEQ ID NO: 10).

25 **[0110]** En algunas formas de realización, la variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSG LSPKRWIYDTSK
LASGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI

K (SEQ ID NO: 12).

[0111] En algunas formas de realización, la variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHYQQKSGQSPKRWIYDTSK

5 LASGVPARFSGSGSGTDYFTFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI

K (SEQ ID NO: 14).

[0112] En algunas formas de realización, la variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos de

QIVLTQSPATLSLSPGERATLTCSASSSVSYMHYQQKPGLSPKRWIYDTSKL

10 ASGVDPDRFSGSGSGTDYFTIRLEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKVEIK

(SEQ ID NO: 16).

[0113] En algunas formas de realización, la variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATLSASPGERVMTSCSASSSVSYMHYQQKPGLAPRRWIYDTSK

15 LASGVDPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI

K (SEQ ID NO: 18).

[0114] En algunas formas de realización, la variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos de

EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHYQQKSGQSPKRWIYDTSK

20 LASGVPARFSGSGSGTDYFTFTISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEI

K (SEQ ID NO: 31).

[0115] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 comprende una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que tiene al menos aproximadamente el 85%, aproximadamente el 90%, aproximadamente el 91%,
25 aproximadamente el 92%, aproximadamente el 93%, aproximadamente el 94%, aproximadamente el 95%, aproximadamente el 96%, aproximadamente el 97%, aproximadamente el 98% o aproximadamente el 99% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 8, 10, 12, 14, 16, 18 o 31.

[0116] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 comprende una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que tiene al menos aproximadamente el 85%, aproximadamente el 90%, aproximadamente el 95%, aproximadamente el 98% o aproximadamente el 99% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 8, 10, 12, 14, 16, 18 o 31 mientras también incluyen una o más de las secuencias VL CDR1, vLCDR2 y/o vLCDR3 descritas en la presente.

[0117] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 o fragmento del mismo comprende una secuencia de aminoácidos de cadena ligera igual a SEQ ID NO: 8, 10, 12, 14, 16, 18 o 31. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 comprende no más de 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 o 2 sustituciones de aminoácidos respecto de SEQ ID NO: 8, 10, 12, 14, 16, 18 o 31.

[0118] Como comprenderán los expertos en la técnica, cualquier secuencia de CDR de cadena ligera puede combinarse fácilmente, por ejemplo, mediante técnicas de biología molecular, con cualquier otra secuencia de anticuerpo o dominios proporcionados en el presente documento o conocidos de otro modo en la técnica, incluidas cualesquiera regiones marco, CDR o dominios constantes o porciones de los mismos según se divulga en el presente documento o se conoce de otro modo en la técnica, que puedan estar presentes en un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo de cualquier formato según se divulga en el presente documento o se conoce de otro modo en la técnica.

[0119] En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en la presente incluye una cadena ligera que incluye cualquier secuencia de dominio constante de cadena ligera, por ejemplo, una secuencia constante de cadena ligera conocida por los expertos en la técnica. Como sabrán los expertos en la técnica, un dominio constante de cadena ligera puede ser un dominio constante de cadena ligera kappa o un dominio constante de cadena ligera lambda. En determinadas formas de realización, el dominio constante de una

cadena ligera como se divulga en el presente documento es un dominio constante de cadena ligera kappa. En diversas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento incluye un dominio constante de cadena ligera.

- 5 **[0120]** Los anticuerpos de ingeniería pueden incluir varias cadenas pesadas y cadenas ligeras descritas en el presente documento. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 puede incluir dos cadenas pesadas y cadenas ligeras. En varias formas de realización, la presente divulgación abarca un anticuerpo que incluye al menos una cadena pesada y/o
- 10 cadena ligera como se divulga en el presente documento, al menos un dominio marco de cadena pesada y/o cadena ligera como se divulga en el presente documento, al menos un dominio CDR de cadena pesada y/o cadena ligera como se divulga en el presente documento, y/o cualquier dominio constante de cadena pesada y/o cadena ligera como se divulga en el presente documento.
- 15 **[0121]** De este modo, en un aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-ADGRE2 o fragmento del mismo que comprende una región variable de cadena pesada con secuencias de región determinante de complementariedad (CDR) de VH CDR1: GYTFTNYW (SEQ ID NO: 1), VH CDR2: VYPGDGDT (SEQ ID NO: 2) y VH CDR3: ARGFTAYGMDY (SEQ ID NO:
- 20 3) y región variable de cadena ligera con secuencias de región determinante de complementariedad (CDR) de SSVSY (SEQ ID NO: 4), una LCDR2 que comprende una secuencia de aminoácidos de DTS (SEQ ID NO: 5) y una LCDR3 que comprende una secuencia de aminoácidos de QQWSSNPLT (SEQ ID NO: 6).
- 25 **[0122]** La tabla de abajo muestra secuencias de región variable de cadena pesada (VH) y de región variable de cadena ligera de ejemplo de anticuerpos ADGRE2 humanizados revelados en el presente documento.

Domin	Secuencias de cadena pesada y ligera variable anti-ADGRE
-------	--

io	
VH_1	QVQLQQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAP GGGLEWIGAVYPPGDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEV SSLRSEDVAVYYCARGFTAYGMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 7)
VL_1	EIVLTQSPATMSASPGERVMTMSCSASSSVSYMHYQQKSGQ SPKRWIYDTSKLGSGVPARFSGSGSGTDYFTISSMEPEDFAT YYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 14)
VH_2	QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAP GGGLEWIGAVYPPGDGDTRYTQKFGGRATLTADTSISTAYMEV SRLRSDDVAVYYCARGFTAYGMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 9)
VL_2	EIVLTQSPATMSASPGERVMTMSCSASSSVSYMHYQQKSGL SPKRWIYDTSKLGSGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFAT YYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 10)
VH_3	QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWVRQA PGGGLEWIGAVYPPGDGDTRYTQKFGGRATLTADTSTSTVYME VSSLRSEDVAVYYCARGFTAYGMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 11)
VL_3	EIVLTQSPATMSASPGERVMTMSCSASSSVSYMHYQQKSGL SPKRWIYDTSKLGSGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFAT YYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 12)
VH_4	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYWMQWVRQA PGGGLEWMGAVYPPGDGDTRHTQKFKGRVTMTRDTSTSTVY

	MELSSLRSED TAVYYCARGFTAYGMDYWGQGTLTVSS (SEQ ID NO: 13)
VL_4	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWHYQQKPGLA PRLIYDTSKSLASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYY CQQWSSNPLTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 8)
VH_5	QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYWMQWVRQA PGQGLEWIGAVYPGDGDTRHTQKFKGRVTMTADKSTSTVYM ELSSLRSED TAVYYCARGFTAYGMDYWGQGTLTVSS (SEQ ID NO: 15)
VL_5	QIVLTQSPATLSLSPGERATLTCSASSSVSYMHWHYQQKPGLS PKRWIYDTSKSLASGVPDRFSGSGSGTDYFTIRLEPEDFATY YCQQWSSNPLTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO: 16)
VH_6	QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAP GQGLEWIGAVYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTAYMEV SSLRSED TAVYYCARGFTAYGMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 17)
VL_6	EIVLTQSPATLSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWHYQQKPGLA PRRWIYDTSKSLASGVPDRFSGSGSGTDYFTISRMEPEDFATY YCQQWSSNPLTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 18).
VH_7	QVQLVQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAP GQGLEWIGAVYPGDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEV SSLRSED TAVYYCARGFTAYGMDYWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO: 30)
VL_7	EIVLTQSPATMSASPGERVMTSCSASSSVSYMHWHYQQKSGQ SPKRWIYDTSKSLASGVPARFSGSGSGTDYFTISSMEPEDFAT YYCQQWSSNPLTFGGGKLEIK (SEQ ID NO: 31).

[0123] En diversas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 aquí divulgado es un anticuerpo monoclonal homodimérico. En diversas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 aquí divulgado es un anticuerpo heterodimérico. En diversas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 es, por ejemplo, un anticuerpo típico o un díacuerpo, triacuerpo, tetracuerpo, minicuerpo, maxicuerpo, tandab, DVD, BiTe, scFv, TandAb scFv, Fab, Fab₂, Fab₃, F(ab')₂, o similares, o cualquier combinación de los mismos.

[0124] En algunas formas de realización, la divulgación proporciona proteínas de fusión que comprenden uno o más dominios variables o anticuerpos de ingeniería como se describe en la presente, o parte de ellos y uno o más polipéptidos adicionales.

Fragmentos variables de cadena simple de ejemplo

[0125] En algunas formas de realización, la divulgación proporciona un fragmento variable de cadena simple. En algunas formas de realización, el scFv es un scFv humano. Un “fragmento variable de cadena simple” o “scFv” se refiere a una proteína de fusión de las regiones variables de las cadenas pesada (V_H) y ligera (V_L) de una inmunoglobulina (por ejemplo, de ratón o humana) unidas covalentemente para formar un heterodímero V_H:V_L. Las cadenas pesadas (V_H) y ligeras (V_L) están unidas directamente o por un enlazador que codifica el péptido (por ejemplo, 10, 15, 20, 25 aminoácidos), que conecta el N-terminal de la V_H con el C-terminal de la V_L, o el C-terminal de la V_H con el N-terminal de la V_L. El enlazador suele ser rico en glicina para mayor flexibilidad, así como en serina o treonina para mayor solubilidad. El enlazador puede unir la región variable de la cadena pesada y la región variable de la cadena ligera del dominio extracelular de unión a antígeno. Ejemplos no limitantes de enlazadores se divulgan en Shen et al., Anal. Chem. 80(6):1910-1917 (2008) y WO 2014/087010, cuyo contenido se incorpora por referencia en su totalidad. En determinadas

formas de realización, el enlazador es un enlazador G4S (SEQ ID NO. 45).

[0126] Alternativa o adicionalmente, el scFv puede derivarse de Fab's (en lugar de un anticuerpo, por ejemplo, obtenido de bibliotecas Fab). En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 o fragmento del mismo es un Fab. En determinadas formas de realización, el Fab está reticulado. En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 o fragmento del mismo es un F(ab)₂. Cualquiera de las moléculas anteriores puede estar comprendida en una proteína de fusión con una secuencia heteróloga para formar un anticuerpo anti-ADGRE2 o un fragmento de unión a antígeno del mismo.

[0127] En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 o el fragmento del mismo se une a ADGRE2 (por ejemplo ADGRE2 humano) con una constante de disociación (K_D) de al menos aproximadamente 1×10^{-6} M, al menos aproximadamente 1×10^{-7} M, al menos aproximadamente 1×10^{-8} M, al menos aproximadamente 1×10^{-9} M, o al menos aproximadamente 1×10^{-10} M. En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 o el fragmento del mismo se une a ADGRE2 (por ejemplo, ADGRE2 humano) con una constante de disociación (K_D) de al menos aproximadamente 2×10^{-8} M. En determinadas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 o el fragmento del mismo se une a ADGRE2 (por ejemplo, ADGRE2 humano) con una constante de disociación (K_D) de entre aproximadamente 2×10^{-8} M y aproximadamente 8×10^{-9} M.

[0128] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 o fragmento del mismo se une a ADGRE2 (por ejemplo, ADGRE2 humano) con una constante de disociación (K_D) de entre aproximadamente 1 nM y 50 nM, aproximadamente 5 nM y 30 nM, aproximadamente 5 nM y 25 nM, o aproximadamente 8 nM y 20 nM. En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 o fragmento del mismo se une a ADGRE2 (por ejemplo, ADGRE2 humano) con una constante de disociación (K_D) de al menos aproximadamente

50 nM, al menos aproximadamente 40 nM, al menos aproximadamente 35 nM, al menos aproximadamente 30 nM, al menos aproximadamente 25 nM, al menos aproximadamente 20 nM, al menos aproximadamente 19 nM, al menos aproximadamente 18 nM, al menos aproximadamente 17 nM, al menos aproximadamente 16 nM, al menos aproximadamente 15 nM, al menos aproximadamente 14 nM, al menos aproximadamente 13 nM, al menos aproximadamente 12 nM, al menos aproximadamente 11 nM, al menos aproximadamente 10 nM, al menos aproximadamente 9 nM, al menos aproximadamente 8 nM, al menos aproximadamente 7 nM, al menos aproximadamente 6 nM, al menos aproximadamente 5 nM.

[0129] En algunas formas de realización, el scFv de anti-ADGRE2 comprende una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 21 o SEQ ID NO: 22.

[0130] En algunas formas de realización, el scFv de anti-ADGRE2 comprende un enlazador comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 24, que se proporciona más abajo:

GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 24)

[0131] En algunas formas de realización, el enlazador comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 25, que se proporciona más abajo:

GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 25)

[0132] En algunas formas de realización, el enlazador comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 26, que se proporciona más abajo:

GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 26)

[0133] En algunas formas de realización, el enlazador comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 27, que se

proporciona más abajo:

GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS (SEQ ID NO: 27)

[0134] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 o fragmento del mismo comprende una modificación de secuencia conservadora (por ejemplo, el anticuerpo anti-ADGRE2 o fragmento del mismo descrito en el presente documento). En algunas formas de realización, la modificación de secuencia conservadora es una modificación de aminoácidos que no afecta o altera significativamente las características de unión del anticuerpo anti-ADGRE2 o fragmento del mismo descrito en el presente documento (por ejemplo, el anticuerpo o fragmento del mismo) que comprende la secuencia de aminoácidos. Las modificaciones conservadoras pueden incluir sustituciones, adiciones y supresiones de aminoácidos. Las modificaciones pueden introducirse en los anticuerpos anti-ADGRE2 o fragmento del mismo mediante técnicas estándar conocidas en la técnica, como la mutagénesis dirigida al sitio y la mutagénesis mediada por PCR. Los aminoácidos pueden clasificarse en grupos según sus propiedades fisicoquímicas, como la carga y la polaridad. Las sustituciones conservadoras de aminoácidos son aquellas en las que el residuo de aminoácido se sustituye por un aminoácido del mismo grupo. Por ejemplo, los aminoácidos pueden clasificarse por su carga: los aminoácidos con carga positiva son la lisina, la arginina y la histidina; los aminoácidos con carga negativa son el ácido aspártico y el ácido glutámico; los aminoácidos con carga neutra son la alanina, la asparagina, la cisteína, la glutamina, la glicina, la isoleucina, la leucina, la metionina, la fenilalanina, la prolina, la serina, la treonina, el triptófano, la tirosina y la valina. Además, los aminoácidos pueden clasificarse por su polaridad: los aminoácidos polares incluyen la arginina (polar básica), la asparagina, el ácido aspártico (polar ácida), el ácido glutámico (polar ácida), la glutamina, la histidina (polar básica), la lisina (polar básica), la serina, la treonina y la tirosina; los aminoácidos no polares incluyen la alanina, la cisteína, la glicina, la isoleucina, la leucina, la metionina, la fenilalanina, la prolina, el triptófano y la valina. Por lo

tanto, uno o más residuos de aminoácidos dentro de una región CDR pueden ser sustituidos por otros residuos de aminoácidos del mismo grupo y el anticuerpo alterado puede ser probado para retener la función. En determinadas formas de realización, no se alteran más de uno, no más de dos, no más de tres, no más de cuatro, no más de cinco residuos dentro de una secuencia específica o una región CDR.

[0135] En algunas formas de realización, la cadena ligera y/o la cadena pesada del scFv anti-ADGRE2 comprenden un péptido señal. En algunas formas de realización, el péptido señal comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 91%, al menos aproximadamente 92%, al menos aproximadamente 93%, al menos aproximadamente 94%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 96%, al menos aproximadamente 97%, al menos aproximadamente 98%, o al menos aproximadamente 99% de homología o identidad con la secuencia de aminoácidos MALPVTALLLPLALLLHA (SEQ ID NO: 32), METDTLLLWVLLLWVPGSTG (SEQ ID NO: 33), MYRMQLLSCIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 34), METPAQLLFLLLLWLPDTTG (SEQ ID NO: 35), MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO: 36), MKWVTFISLLFSSAYS (SEQ ID NO: 37), MDSKGSSQKGSRLLLLVSNNLLCQGVVS (SEQ ID NO: 38), MDMRVPAQLLGLLLLWLPDTRC (SEQ ID NO: 28) o MEFGLSWVFLVALLRGVQC (SEQ ID NO: 29). En algunas formas de realización, el péptido señal comprende MALPVTALLLPLALLLHA (SEQ ID NO: 32). En algunas formas de realización, el péptido señal comprende METDTLLLWVLLLWVPGSTG (SEQ ID NO: 33). En algunas formas de realización, el péptido señal comprende MYRMQLLSCIALSLALVTNS (SEQ ID NO: 34). En algunas formas de realización, el péptido señal comprende METPAQLLFLLLLWLPDTTG (SEQ ID NO: 35). En algunas formas de

realización, el péptido señal comprende MALPVTALLLPLALLLHAARP (SEQ ID NO: 36). En algunas formas de realización, el péptido señal comprende MKWVTFISLLFSSAYS (SEQ ID NO: 37). En algunas formas de realización, el péptido señal comprende MDSKGSSQKGSRLLLLLVSNLLLCQGVVS (SEQ ID NO: 38). En algunas formas de realización, el péptido señal comprende MDMRVPAQLLGLLLLWLPDTRC (SEQ ID NO: 28). En algunas formas de realización, el péptido señal comprende MEFGLSWVFLVALLRGVQC (SEQ ID NO: 29).

[0136] En algunas formas de realización, el scFv de anti-ADGRE2 comprende una secuencia de aminoácidos de QVQLQQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIKQAPGQGLEWIGAV YPGDGDTRHTQKFKGKATLTADKSTSTAYMEVSSLRSEDVAVYYCARGFTAY GMDYWGGQTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMSASPGERTV MSCSASSSVSYMHWYQQKSGQSPKRWIYDTSKLGSGVPAFSGSGSGTDYTF TISSMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 19) (scFv “K”);

[0137] QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWIRQAPG QGLEWIGAVYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSISTAYMEVSRLRSDDTAVYY CARGFTAYGMDYWGGQTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATMS ASPGERVTMSCSASSSVSYMHWYQQKSGLSPKRWIYDTSKLGSGVPDRFSG SGSGTDYTFITSRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 20) (scFv “B”);

[0138] QVQLQQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTNYWMQWVRQAPG QGLEWIGAVYPGDGDTRYTQKFQGRATLTADTSTSTVYMEVSSLRSEDVAVY YCARGFTAYGMDYWGGQTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPATM SASPGERTVMTSCSASSSVSYMHWYQQKSGLSPKRWIYDTSKLGSGVPDRFS GSGSGTDYTFITSRMEPEDFATYYCQQWSSNPLTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO: 21) (scFv “N”); o

[0139] QVQLQQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTNYWMQWVRQAP QGLEWMGAVYPGDGDTRHTQKFKGRVTMTRDTSTSTVYMESSLRSEDTA

VYYCARGFTAYGMDYWGQGTLVTVSSASTGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQ
 SPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKPGLAPRLLIYDTSKLGIPD
 RFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWSSNPLTFGQGTKVEIK (SEQ ID
 NO: 22) (scFv "A").

- 5 **[0140]** En algunas formas de realización, scFv de anti-ADGRE2 comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos aproximadamente el 70%, al menos aproximadamente el 75%, al menos aproximadamente el 80%, al menos aproximadamente el 85%, al menos aproximadamente el 90%, al menos aproximadamente el 91%, al menos aproximadamente el 92%, al menos
- 10 aproximadamente el 93%, al menos aproximadamente el 94%, al menos aproximadamente el 95%, al menos aproximadamente el 96%, al menos aproximadamente el 97%, al menos aproximadamente el 98% o al menos aproximadamente el 99% de homología o identidad con SEQ ID NO: 19, 20, 21 o 22.
- 15 **[0141]** En algunas formas de realización, el scFv de anti-ADGRE2 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 19, 20, 21 o 22. En algunas formas de realización, el scFv de anti-ADGRE2 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 19. En algunas formas de realización, el scFv de anti-ADGRE2 comprende la secuencia de aminoácidos
- 20 establecida en SEQ ID NO: 20. En algunas formas de realización, el scFv de anti-ADGRE2 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 21. En algunas formas de realización, el scFv de anti-ADGRE2 comprende la secuencia de aminoácidos establecida en SEQ ID NO: 22.

25 **Secuencias de nucleótidos**

[0142] La presente divulgación incluye secuencias de nucleótidos que codifican una o más cadenas pesadas, dominios variables de cadenas pesadas, regiones marco de cadenas pesadas, CDR de cadenas pesadas, dominios constantes de cadenas pesadas, cadenas ligeras, dominios variables de cadenas ligeras,

regiones marco de cadenas ligeras, CDR de cadenas ligeras, dominios constantes de cadenas ligeras, u otras secuencias similares a la inmunoglobulina, o anticuerpos divulgados en la presente. En diversas formas de realización, dichas secuencias de nucleótidos pueden estar presentes en un vector. En diversas formas de realización, dichos nucleótidos pueden estar presentes en el genoma de una célula, por ejemplo, una célula de un sujeto que necesita tratamiento o una célula para la producción de un anticuerpo, por ejemplo, una célula de mamífero para la producción de un anticuerpo.

10 **Anticuerpos manipulados por ingeniería y proteínas de fusión**

[0143] En algunas formas de realización, la divulgación proporciona proteínas de fusión que comprenden (i) una o más regiones de unión a antígeno descritas en el presente documento (por ejemplo, región de unión a antígeno de inmunoglobulina, anticuerpo de cadena pesada, anticuerpo de cadena ligera, anticuerpo basado en LRR, u otro andamiaje proteico con propiedades similares a las del anticuerpo, así como otra fracción de unión a antígeno conocida en la técnica, incluyendo, por ejemplo un Fab, Fab', Fab'2, Fab₂, Fab₃, F(ab')₂, Fd, Fv, Feb, scFv, SMIP, anticuerpo, diacuerpo, triacuerpo, tetracuerpo, minicuerpo, maxicuerpo, tandab, DVD, BiTe, TandAb, o similares), por ejemplo, uno o más dominios variables descritos en el presente documento, o una parte de los mismos (por ejemplo, uno o más CDR descritos en el presente documento), y (ii) uno o más polipéptidos adicionales. Por ejemplo, la albúmina es una proteína sérica abundante que está protegida de la degradación por el reciclaje dependiente del pH mediado por la interacción con el FcRn. En algunas formas de realización, uno o más dominios variables o anticuerpos de ingeniería como los descritos en el presente documento, o una porción de los mismos (por ejemplo, uno o más CDR descritos en el presente documento) se fusiona con la albúmina, una porción de la misma (como una porción de la albúmina que se une a un FcRn), y/o una variante de ingeniería de la albúmina que se une al FcRn con afinidad mejorada. En otros casos, uno o más dominios variables o

anticuerpos de ingeniería como los descritos en el presente documento, o una porción de los mismos (por ejemplo, una o más CDR descritas en el presente documento) se fusionan con un polipéptido que se une a la albúmina para formar un complejo de proteína-albúmina de fusión, que a su vez puede unirse a un FcRn. En algunas formas de realización, el polipéptido que se une a la albúmina es un fragmento variable de cadena única (scFv). La albúmina o una porción de la misma puede incluir una mutación de uno o más aminoácidos que puede modificar su unión a un FcRn. Tales mutaciones son conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, Andersen et al., Nature Communications 3:610 doi: 10.1038/nocmms1607 (2012)). En otros casos, uno o más dominios variables o anticuerpos de ingeniería descritos en el presente documento, o una parte de los mismos (por ejemplo, una o más CDR descritas en el presente documento) se fusionan con la transferrina. La transferrina se recicla al unirse a un receptor de transferrina (véase, por ejemplo, Widera et al., Adv. Drug Deliv. Rev. 55:1439-66 (2003)).

Anticuerpos manipulados por ingeniería y fragmentos de los mismos

[0144] Los anticuerpos ADGRE2 y los fragmentos de los mismos según la presente divulgación están diseñados para incluir uno o más elementos de unión que se unen específicamente a uno o más objetivos de interés. Los anticuerpos ADGRE2 y los fragmentos de los mismos abarcan ácidos nucleicos (por ejemplo, ARN y ADN), proteínas (por ejemplo, anticuerpos) y una combinación de los mismos. En algunas formas de realización, las moléculas de unión dependientes del pH pueden ser o incluir, por ejemplo, ácidos nucleicos (por ejemplo, ARN y ADN) y aptámeros, polipéptidos (por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de los mismos, albúmina, receptores, ligandos, péptidos señal, avidina y proteína A), polisacáridos, biotina, grupos hidrofóbicos, grupos hidrofílicos, fármacos y cualquier molécula orgánica que se una a los receptores.

[0145] Los anticuerpos ADGRE2 divulgados en el presente documento

son anticuerpos humanizados y fragmentos de los mismos. Se conocen varios métodos de humanización en la técnica e incluyen, por ejemplo, los métodos de humanización de Xoma y otros métodos basados en la bioinformática.

5 *Anticuerpos o fragmentos de los mismos como elementos de unión*

[0146] En algunas formas de realización, un anticuerpo o fragmento del mismo descrito en el presente documento es un anticuerpo anti-ADGRE2. En algunos casos, uno o más motivos de unión descritos en el presente documento son o incluyen anticuerpos, fragmentos de unión a antígeno de los mismos, y/o

10 regiones Fc (o fragmentos Fc) de los mismos. La estructura básica de un anticuerpo IgG consiste en dos cadenas polipeptídicas ligeras idénticas y dos cadenas polipeptídicas pesadas idénticas unidas por enlaces disulfuro. El primer dominio situado en el extremo amino de cada cadena es variable en la secuencia de aminoácidos, lo que proporciona las especificidades de unión a los

15 anticuerpos que se encuentran en cada uno de ellos. Se conocen como regiones variables de la cadena pesada (VH) y de la cadena ligera (VL). Los otros dominios de cada cadena son relativamente invariables en la secuencia de aminoácidos y se conocen como regiones constantes pesadas (CH) y constantes ligeras (CL). Para un anticuerpo IgG, la cadena ligera incluye una región variable (VL) y una

20 región constante (CL). Una cadena pesada IgG incluye una región variable (VH), una primera región constante (CH1), una región bisagra, una segunda región constante (CH2) y una tercera región constante (CH3). En los anticuerpos IgE e IgM, la cadena pesada incluye una región constante adicional (CH4).

[0147] Los anticuerpos pueden incluir, por ejemplo, anticuerpos

25 monoclonales, anticuerpos producidos recombinantemente, anticuerpos monoespecíficos, anticuerpos multiespecíficos (incluyendo anticuerpos biespecíficos), anticuerpos humanos, anticuerpos de ingeniería, anticuerpos humanizados, anticuerpos quiméricos, inmunoglobulinas, anticuerpos sintéticos, anticuerpos tetraméricos que comprenden dos moléculas de cadena pesada y

dos de cadena ligera, un monómero de cadena ligera de anticuerpo, un monómero de cadena pesada de anticuerpo un dímero de cadena ligera de anticuerpo, un dímero de cadena pesada de anticuerpo, un par de cadena ligera de anticuerpo y cadena pesada de anticuerpo, intracuerpos, fusiones de anticuerpos (a veces denominadas aquí “conjugados de anticuerpos”), anticuerpos heteroconjugados anticuerpos de un solo dominio, anticuerpos monovalentes, anticuerpos de una sola cadena o Fvs de una sola cadena (scFv), anticuerpos camelizados, affycuerpos, fragmentos Fab, fragmentos F(ab')₂, Fvs ligados a disulfuro (sdFv), anticuerpos antiidiotípicos (anti-Id) (incluyendo, por ejemplo, anticuerpos anti-Id), minicuerpos, anticuerpos de dominio, anticuerpos sintéticos (a veces denominados “miméticos de anticuerpos”) y fragmentos de unión a antígeno de cualquiera de los anteriores. En determinadas formas de realización, los anticuerpos descritos en el presente documento se refieren a poblaciones de anticuerpos policlonales.

[0148] La expresión “fragmento Fc”, tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a uno o más fragmentos de una región Fc que conserva una función y/o actividad Fc descrita en el presente documento, como la unión a un receptor Fc. El término “fragmento de unión a antígeno” de un anticuerpo, tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a uno o más fragmentos de un anticuerpo que conservan la capacidad de unirse específicamente a un antígeno. Entre los ejemplos de fragmentos de unión comprendidos en el término “fragmento de unión a antígeno” de un anticuerpo se incluyen un fragmento Fab, un fragmento F(ab')₂, un fragmento Fd, un fragmento Fv, un fragmento scFv, un fragmento dAb (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546), y una región aislada que determina la complementariedad (CDR). Estos fragmentos de anticuerpos pueden obtenerse mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica, y la utilidad de los fragmentos puede examinarse de la misma manera que la de los anticuerpos intactos.

[0149] En algunos aspectos, la presente invención proporciona

anticuerpos o fragmentos de los mismos que se unen a ADGRE2 humano que comprende regiones constantes pesadas y/o ligeras humanas, en las que la región constante pesada humana comprende una variante isotópica que comprende la región Fc de IgG1 humana, IgG2 humana, IgG3 humana o IgG4 humana.

[0150] En otro aspecto, la presente invención proporciona un anticuerpo humanizado o un fragmento del mismo que se une a ADGRE2 humano, en el que el anticuerpo comprende una región Fc IgG humana variante que comprende la sustitución de aminoácidos S324N que reemplaza la serina en la posición de aminoácidos 324 del anticuerpo padre con asparagina, mientras que el anticuerpo que comprende la región Fc IgG humana variante exhibe una citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) mejorada en comparación con el anticuerpo padre.

[0151] Los anticuerpos o fragmentos pueden producirse mediante cualquier método conocido en la técnica para sintetizar anticuerpos (véase, por ejemplo, Harlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2^a ed. 1988); Brinkman et al., 1995, *J. Immunol. Methods* 182:41-50; WO 92/22324; WO 98/46645). Los anticuerpos quiméricos pueden producirse mediante métodos descritos en, por ejemplo, Morrison, 1985, *Science* 229:1202, y los anticuerpos humanizados mediante métodos descritos en, por ejemplo, patente U.S. N.º 6.180.370.

[0152] Otras composiciones y métodos descritos en el presente documento son los anticuerpos biespecíficos y los anticuerpos multivalentes, como se describe, por ejemplo, en Segal et al., *J. Immunol. Methods* 248:1-6 (2001); y Tutt et al., *J. Immunol.* 147: 60 (1991).

Regiones de unión a antígenos manipuladas por ingeniería

[0153] En algunas formas de realización, un resto de unión es o incluye un

anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo IgG, por ejemplo, un anticuerpo IgG1, IgG2, o IgG3), o un fragmento de unión a antígeno, diseñado para unirse a una diana (es decir, antígeno) de una manera alterada (por ejemplo, de una manera sensible al pH, por ejemplo, de una manera más o menos sensible al pH) en relación con un anticuerpo de referencia o fragmento de unión a antígeno. Por ejemplo, un anticuerpo puede diseñarse modificando (por ejemplo, añadiendo, suprimiendo o sustituyendo) un aminoácido dentro de una o más CDR del anticuerpo y/o en una posición implicada en la estructura de CDR del anticuerpo. Los sitios ejemplares, no limitantes, de un anticuerpo que pueden modificarse incluyen los siguientes (las posiciones de aminoácidos se indican basándose en la numeración de Kabat (Kabat et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH)).

[0154] Cadena pesada: H27, H31, H32, H33, H35, H50, H58, H59, H61, H62, H63, H64, H65, H99, H100b y H102

[0155] Cadena ligera: L24, L27, L28, L32, L53, L54, L56, L90, L92 y L94.

[0156] En algunas formas de realización, uno o más de estos aminoácidos divulgados pueden ser sustituidos por histidina, arginina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, serina, treonina, asparagina o glutamina. Sin querer estar limitado por la teoría, se cree que la sustitución de un aminoácido en una o más de estas posiciones con una histidina puede dar lugar a un anticuerpo que tenga propiedades de unión al antígeno dependientes del pH. En algunas formas de realización, se sustituye un residuo no histidina por un residuo histidina. En algunas formas de realización, se sustituye un residuo de histidina por un residuo de no histidina. Otras regiones de unión a antígeno diseñadas incluyen las descritas en, por ejemplo, publicación U.S. N.º 20110229489.

Regiones constantes manipuladas por ingeniería

[0157] En algunos casos, un resto de unión es o incluye una región constante de anticuerpo, una región Fc o un fragmento Fc que se une a uno o

más receptores Fc (por ejemplo, receptor FcγRI, FcγRIIA, FcγRIIB, FcγRIIIA, FcγRIIIB, FcγRIV o FcRn). En algunas formas de realización, una región constante, una región Fc o un fragmento Fc se diseñan para que se unan a una diana (por ejemplo, un receptor Fc) de forma alterada (por ejemplo, de forma sensible al pH, por ejemplo, de forma más o menos sensible al pH) en relación con una región constante, una región Fc o un fragmento Fc de referencia.

[0158] En algunos casos, un resto de unión puede ser o incluir una región constante, una región Fc o un fragmento Fc de un anticuerpo IgG diseñado para incluir una adición, supresión o sustitución de aminoácidos de uno o más de los residuos de aminoácidos descritos en el presente documento (por ejemplo, 251-256, 285-290, 308-314, 385-389 y 428-436 (numeración de Kabat (Kabat et al., (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, NIH))).

Producción de anticuerpos ADGRE2 y fragmentos de los mismos

[0159] En algunas formas de realización, un anticuerpo o fragmento del mismo descrito en el presente documento se diseña para que incluya uno o más elementos de unión que muestren la unión a una o más dianas mediante mutagénesis utilizando técnicas conocidas. Por ejemplo, puede obtenerse una secuencia de un polipéptido de referencia (por ejemplo, un anticuerpo terapéutico o una proteína de fusión terapéutica), y pueden añadirse, eliminarse o sustituirse uno o más residuos de aminoácidos. En algunas formas de realización, uno o más residuos de aminoácidos se sustituyen por histidina, arginina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, serina, treonina, asparagina o glutamina. En algunas formas de realización, uno o más aminoácidos están sustituidos con histidina.

[0160] En algunas formas de realización, sin desear quedar ligados por la teoría, se cree que la sustitución de un residuo de aminoácido por una histidina da lugar a la inserción de un sitio de protonación, que puede aumentar la sensibilidad al pH de un resto de unión. Los polipéptidos pueden producirse utilizando métodos estándar y ensayarse para la unión a las dianas de interés como se describe en el presente documento. Otros métodos para aumentar la

sensibilidad al pH de un resto de unión se describen, por ejemplo, en Sarkar et al., Nature Biotechnology 20:908-913 (2002); Murtaugh et al., Protein Science 20:1619-1631 (2011); y Publ. U.S. N.º 20110229489.

[0161] En algunas formas de realización, se selecciona una primera diana de interés, y se proporciona, obtiene y/o produce un anticuerpo que se une selectivamente a la diana (por ejemplo, utilizando métodos conocidos como los descritos en el presente documento). Se sustituyen uno o más aminoácidos de una región de unión a antígeno y/o una región Fc (por ejemplo, con histidina, arginina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, serina, treonina, asparagina o glutamina), y se determina la sensibilidad al pH de la unión a la diana (y, adicional o alternativamente, al FcRn).

[0162] En algunas formas de realización, se proporciona, se obtiene y/o se produce un polipéptido que se une naturalmente a una diana de interés. El polipéptido se conjuga con una región Fc o un fragmento Fc descrito en el presente documento (por ejemplo, que se une a FcRn con una afinidad de unión deseada) utilizando métodos conocidos. Por ejemplo, el polipéptido y la región Fc o el fragmento Fc pueden conjugarse por medios químicos o por expresión recombinante como una proteína de fusión. Adicional o alternativamente, uno o más aminoácidos del polipéptido pueden ser sustituidos (por ejemplo, con histidina, arginina, lisina, ácido aspártico, ácido glutámico, serina, treonina, asparagina o glutamina), y se determina la sensibilidad al pH de la unión del polipéptido y la diana.

[0163] En algunas formas de realización, un anticuerpo o fragmento del mismo descrito en el presente documento está diseñado para incluir una o más moléculas de unión identificadas y/o seleccionadas mediante cribado. Por ejemplo, un resto de unión a antígeno que se une al antígeno puede identificarse utilizando una biblioteca, por ejemplo, una biblioteca de fagos, que exprese fracciones de unión a antígeno. Se conocen métodos de cribado de bibliotecas de anticuerpos recombinantes (véase, por ejemplo, Hoogenboom, Nature

Biotech. 23:1105-1116 (2005); US Pat. N° 5.837.500; US Pat. N° 5.571.698; WO 2012/044831).

PEGilación

5 **[0164]** En determinadas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento puede estar PEGilado para incluir mono o poli(por ejemplo, 2-4) moléculas de PEG. Tales anticuerpos PEGilados pueden mostrar una mayor vida media en comparación con un anticuerpo de referencia no PEGilado, por ejemplo, un anticuerpo que tiene la misma secuencia de aminoácidos pero diferente, una cantidad diferente de, o ninguna PEGilación.

10 **[0165]** La PEGilación puede llevarse a cabo mediante cualquier reacción adecuada conocida en la técnica. Los métodos para preparar una proteína PEGilada pueden incluir generalmente (a) la reacción de un polipéptido con polietilenglicol (como un éster reactivo o un derivado aldehídico de PEG) en condiciones en las que el polipéptido se une a uno o más grupos PEG; y (b) la
15 obtención del producto o productos de la reacción. En general, las condiciones de las reacciones pueden determinarse caso por caso en función de los parámetros conocidos y del resultado deseado.

20 **[0166]** Hay varios métodos de fijación de PEG disponibles para los expertos en la técnica. Por ejemplo, la etapa de PEGilación de un anticuerpo o fragmento del mismo descrita en el presente documento puede llevarse a cabo mediante una reacción de acilación o una reacción de alquilación con una molécula reactiva de polietilenglicol.

Medición de las interacciones de los elementos de unión y las dianas

25 **[0167]** Las propiedades de unión de un anticuerpo o fragmento del mismo descrito en el presente documento (por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento) a una diana (por ejemplo, ADGRE2) pueden

medirse por métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, uno de los siguientes métodos: Análisis BIACORE, ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), cristalografía de rayos X, análisis de secuencias y mutagénesis de barrido. La interacción de unión de un anticuerpo y ADGRE2 y/o FcRn puede
5 analizarse mediante resonancia de plasmón superficial (SPR). La SPR o Análisis de Interacción Biomolecular (BIA) detecta las interacciones bioespecíficas en tiempo real, sin etiquetar ninguno de los interactuantes. Los cambios de masa en la superficie de unión (indicativos de un evento de unión) del chip BIA dan lugar a alteraciones del índice de refracción de la luz cerca de la superficie. Los
10 cambios en la refractividad generan una señal detectable, que se mide como indicación de reacciones en tiempo real entre moléculas biológicas. Los métodos para utilizar la SPR se describen, por ejemplo, en la patente U.S. N.º 5.641.640; Raether (1988) Surface Plasmons Springer Verlag; Sjolander y Urbaniczky (1991) Anal. Chem. 63:2338-2345; Szabo et al. (1995) Curr. Opin. Struct. Biol.
15 5:699-705 y recursos en línea proporcionados por BIAcore International AB (Uppsala, Suecia). Además, también puede utilizarse un ensayo KinExA® (Kinetic Exclusion Assay), disponible en Sapidyne Instruments (Boise, Id.).

[0168] La información de SPR puede utilizarse para proporcionar una medida precisa y cuantitativa de la constante de disociación de equilibrio (K_D), y
20 los parámetros cinéticos, incluyendo K_{on} y K_{off} , para la unión de un resto de unión a un objetivo (por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 a ADGRE2 y/o FcRn). Estos datos pueden utilizarse para comparar diferentes moléculas. La información de la SPR también puede utilizarse para desarrollar relaciones estructura-actividad (SAR). Por ejemplo, se pueden evaluar los parámetros de
25 unión cinética y de equilibrio de determinados elementos de unión a las dianas a distintos niveles de pH. Se pueden identificar aminoácidos variantes en determinadas posiciones que se correlacionan con parámetros de unión particulares, por ejemplo, alta afinidad, baja afinidad y K_{off} lento, en niveles de pH particulares.

Métodos de tratamiento

[0169] En algunas formas de realización, un anticuerpo o un fragmento del mismo descrito en el presente documento (por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 como se describe en el presente documento) se utiliza en un método de tratamiento de una o más afecciones asociadas a ADGRE2. En algunas formas de realización, un anticuerpo o un fragmento del mismo descrito en el presente documento (por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 como se describe en el presente documento) se utiliza como medicamento. Las afecciones asociadas a ADGRE2 pueden incluir, sin limitación, afecciones que son causadas por, incluyen, incluyen síntomas que resultan en todo o en parte de, o se sabe que ocurren en conjunción con la expresión de ADGRE2.

[0170] En algunos aspectos, la presente invención proporciona un método para tratar un cáncer que comprende la administración de un agente que se une específicamente con ADGRE2 (por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento o fragmento del mismo). Un cáncer es un amplio grupo de diversas enfermedades caracterizadas por el crecimiento incontrolado de células anormales en el cuerpo. La división y el crecimiento celular no regulados dan lugar a la formación de tumores malignos que invaden los tejidos vecinos y también pueden hacer metástasis en partes distantes del cuerpo a través del sistema linfático o el torrente sanguíneo. En algunas formas de realización, el “cáncer” o “tejido canceroso” comprende un tumor sólido. Los ejemplos de cánceres que pueden ser tratados por los métodos de la presente invención incluyen, pero no se limitan a cánceres del sistema inmunitario, incluyendo linfoma, leucemia, mieloma y otras enfermedades leucocitarias. En algunas formas de realización, el cáncer es una leucemia mieloide aguda.

[0171] En algunas formas de realización, el linfoma se selecciona del grupo que consiste en Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA), Linfoma relacionado con el SIDA, Linfoma de células B grandes ALK positivo, Linfoma de Burkitt,

Leucemia Linfocítica Crónica (LLC), Linfoma de Hodgkin clásico, Linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), Linfoma folicular, Linfoma intravascular de células B grandes, Linfoma de células B grandes que surge en la enfermedad de Castleman multicéntrica asociada al HHV8, Granulomatosis linfomatoide, 5 Linfoma linfoplasmocítico, Linfoma de células del manto (LCM), Linfoma de células B de la zona marginal (LZM), Linfoma del tejido linfático asociado a la mucosa (TLAM), Linfoma de células B de la zona marginal nodal (LZMN), Linfoma de Hodgkin de predominio linfocítico nodular, Linfoma no Hodgkin, Linfoma plasmablastico, Linfoma primario del sistema nervioso central, Linfoma primario 10 de efusión, Linfoma de la zona marginal esplénica (SMZL) y Macroglobulinemia de Waldenstrom. En algunas formas de realización, el linfoma se selecciona del grupo que consiste en Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA), Leucemia Linfocítica Crónica (LLC), Linfoma Difuso de Células B Grandes (LDCGB), Linfoma Folicular, Linfoma de Células del Manto (LCM), Linfoma de Células B de la Zona 15 Marginal (LZM), Linfoma de Tejidos Linfáticos Asociados a la Mucosa (TLAM) y Linfoma No Hodgkin. En algunas formas de realización, el linfoma es un linfoma no Hodgkin. En algunas formas de realización, el cáncer es una leucemia mieloide aguda recidivante y refractaria.

[0172] En determinadas formas de realización, el tumor es un cáncer. En 20 determinadas formas de realización, el tumor es un cáncer de la sangre. En determinadas formas de realización, el tumor se selecciona del grupo que consiste en mieloma múltiple, leucemia, linfomas y neoplasias mieloides. Ejemplos no limitantes de cáncer de la sangre incluyen el mieloma múltiple, la leucemia y los linfomas. Los ejemplos no limitantes de leucemia incluyen la 25 leucemia mieloide aguda (AML), la leucemia mieloide crónica (CML), la leucemia linfocítica aguda (ALL), la leucemia linfocítica crónica (CLL), la leucemia promielocítica aguda (APL), la leucemia aguda de fenotipo mixto (MLL), la leucemia de células pilosas y la leucemia prolinfocítica de células B. El linfoma puede ser un linfoma de Hodgkin o un linfoma no Hodgkin. Entre los ejemplos no 30 limitantes de neoplasias mieloides se incluyen los síndromes mielodisplásicos

- (SMD), las neoplasias mieloproliferativas (NMP), las neoplasias mieloides/linfoides (por ejemplo, neoplasias mieloides/linfoides con eosinofilia y reordenamiento del receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas alfa (PDGFRA), del receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas beta (PDGFRB) o Receptor de Crecimiento de Fibroblastos 1 (FGFR1), o con PCM1-JAK2), leucemia mieloide aguda (LMA), neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas, leucemia/linfoma linfoblástica B y leucemia/linfoma linfoblástica T. En determinadas formas de realización, las neoplasias mieloides comprenden síndromes mielodisplásicos.
- 5
- 10 **[0173]** En determinadas formas de realización, el tumor es una neoplasia de células B. Los ejemplos no limitantes de malignidad de células B incluyen el linfoma de células B (BCL), la leucemia linfocítica aguda de células B (ALL), la leucemia linfocítica crónica de células B (CLL), el mieloma múltiple (MM), la CLL con transformación de Richter y el linfoma del SNC. El linfoma de células B
- 15 incluye el linfoma no Hodgkin (LNH) de células B y el linfoma de Hodgkin de células B.
- [0174]** En diversas formas de realización, la administración de un anticuerpo o fragmento del mismo descrito en el presente documento (por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento o
- 20 fragmento del mismo) resulta en una disminución de la prevalencia, frecuencia, nivel y/o cantidad de uno o más síntomas o biomarcadores de una condición asociada a ADGRE2 como se describe en el presente documento o de otra manera conocida en el arte, por ejemplo una disminución de al menos aproximadamente el 3%, aproximadamente el 4%, aproximadamente el 5%,
- 25 aproximadamente el 6%, aproximadamente el 7%, aproximadamente el 8%, aproximadamente el 9%, aproximadamente el 10%, aproximadamente el 15%, aproximadamente el 20%, aproximadamente el 25%, aproximadamente el 30%, aproximadamente el 35%, aproximadamente el 40%, aproximadamente el 45%, aproximadamente el 50%, aproximadamente el 60%, aproximadamente el 70%,

aproximadamente el 80%, aproximadamente el 90%, 95%, aproximadamente el 99% o aproximadamente el 100% de uno o más síntomas o biomarcadores en comparación con una medición anterior en el sujeto o con un valor de referencia.

[0175] En algunas formas de realización, la administración de un anticuerpo o fragmento del mismo descrito en el presente documento (por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento) a un sujeto con cáncer produce una mayor disminución o mejora de uno o más síntomas o biomarcadores de cáncer que un anticuerpo de referencia, por ejemplo, un anticuerpo que compite de forma cruzada con la unión de ADGRE2, en condiciones comparables.

[0176] En algunas formas de realización, un anticuerpo o fragmento del mismo descrito en el presente documento (por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 como se describe en el presente documento) presenta una dosis efectiva reducida en comparación con una proteína de referencia (por ejemplo, un anticuerpo que compite de forma cruzada por la unión de ADGRE2). Por ejemplo, una dosis eficaz de un anticuerpo anti-ADGRE2 como se describe en el presente documento puede ser, por ejemplo, inferior a 1.000 mg/dosis, por ejemplo, inferior a 900 mg/dosis, 800 mg/dosis, 700 mg/dosis, 600 mg/dosis, 500 mg/dosis, 550 mg/dosis, 400 mg/dosis, 350 mg/dosis, 300 mg/dosis, 200 mg/dosis, 100 mg/dosis, 50 mg/dosis, 25 mg/dosis, o menos. En ciertos casos, una dosis eficaz de un anticuerpo anti-ADGRE2 como se divulga en el presente documento es inferior a una dosis efectiva o recomendada o aprobada de un anticuerpo de referencia, cuya dosis de un anticuerpo de referencia puede ser, por ejemplo, 900 mg/dosis o 600 mg/dosis. De forma alternativa o en combinación con una dosis como la descrita en el presente documento, un anticuerpo anti-ADGRE2 como el descrito en el presente documento puede administrarse de forma eficaz o útil con una frecuencia inferior a una vez por semana, por ejemplo, menos de una vez cada semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, 8 semanas, 9 semanas, 10 semanas, 11 semanas, 12

semanas, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 7 meses, 8 meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses o un año. En ciertos casos, una frecuencia de administración eficaz o útil de un anticuerpo anti-ADGRE2 como se divulga en el presente documento es inferior a una frecuencia de administración eficaz o recomendada o aprobada de un anticuerpo de referencia, cuya frecuencia de administración puede administrarse semanalmente (por ejemplo, a una dosis de 300-600 mg, dependiendo del peso del sujeto) o cada dos semanas (por ejemplo, a una dosis de 300-1200 mg, dependiendo del peso del sujeto).

[0177] En algunas formas de realización, un anticuerpo o fragmento del mismo descrito en el presente documento (por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento) puede administrarse en una cantidad de dosis reducida en comparación con una proteína de referencia, por ejemplo un anticuerpo que compite de forma cruzada por la unión de ADGRE2, logrando al mismo tiempo un resultado igual, igualmente eficaz, comparativamente eficaz o sustancialmente eficaz, cuando el anticuerpo anti-ADGRE2 se administra en una formulación idéntica, equivalente o sustancialmente equivalente y/o por una vía de administración idéntica, equivalente o sustancialmente equivalente a la de referencia (por ejemplo, un anticuerpo que compite de forma cruzada por la unión de ADGRE2). En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento puede administrarse a un intervalo mayor en comparación con un anticuerpo de referencia (por ejemplo, un anticuerpo que compite de forma cruzada por la unión de ADGRE2) mientras se consigue un resultado igual, igualmente eficaz, comparativamente eficaz o sustancialmente eficaz, cuando el anticuerpo anti-ADGRE2 se administra en una formulación idéntica, equivalente o sustancialmente equivalente y/o por una vía de administración idéntica, equivalente o sustancialmente equivalente a la de referencia. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento puede administrarse en un número reducido de dosis unitarias, y/o durante un período reducido de tratamiento, en comparación con un anticuerpo de

referencia, mientras se consigue un resultado igual, igualmente eficaz, comparativamente eficaz o sustancialmente eficaz, donde el anticuerpo anti-ADGRE2 se administra en una formulación idéntica, equivalente o sustancialmente equivalente y/o por una vía de administración idéntica, equivalente o sustancialmente equivalente a la de referencia (por ejemplo, un anticuerpo que compite de forma cruzada por la unión de ADGRE2).

[0178] De acuerdo con algunas de estas formas de realización, una dosis administrada de un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento puede ser menos probable que provoque una respuesta adversa cuando se administra a un sujeto, por ejemplo, una respuesta inmune adversa, que lo haría una dosis efectiva de un anticuerpo de referencia, por ejemplo, un anticuerpo que compite de forma cruzada para la unión de ADGRE2. En consecuencia, en diversas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 como se divulga en el presente documento puede ser menos probable que un anticuerpo de referencia, por unidad de actividad administrada para inducir una reacción adversa o efecto secundario. En diversas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 como se divulga en el presente documento puede ser menos probable que un anticuerpo de referencia, por unidad de actividad administrada, para inducir una reacción adversa o efecto secundario que tenga un grado particular de gravedad. En diversas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 como se divulga en el presente documento puede inducir una o más reacciones adversas o efectos secundarios en menor grado o en menos pacientes que un anticuerpo de referencia, por unidad de actividad administrada. Los ejemplos de reacciones adversas o efectos secundarios que pueden asociarse con la administración de un anticuerpo capaz de unirse a ADGRE2, pueden incluir dolor de cabeza, nasofaringitis, dolor de espalda, náuseas, diarrea, hipertensión, infección de las vías respiratorias superiores, dolor abdominal, vómitos, anemia, tos, edema periférico, y/o infección del tracto urinario.

[0179] En algunas formas de realización, después de la administración a

un sujeto (por ejemplo, en una dosis simple), un anticuerpo o fragmento del mismo descrito en el presente documento (por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento) se mide en un nivel aumentado en el plasma en un tiempo definido tras la administración (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, o más días), en relación con el nivel de un control en el mismo tiempo definido (por ejemplo, un anticuerpo que compite de forma cruzada por la unión de ADGRE2). Por ejemplo, en un momento definido tras la administración de una dosis única, un nivel de un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento es al menos aproximadamente el 10%, aproximadamente el 20%, aproximadamente el 30%, aproximadamente el 40%, aproximadamente el 50%, aproximadamente el 60%, aproximadamente el 70%, aproximadamente el 80%, aproximadamente el 90%, aproximadamente el 100%, aproximadamente el 150%, aproximadamente el 200%, aproximadamente el 300%, aproximadamente el 400% o aproximadamente el 500% más alto que un nivel correspondiente de un anticuerpo de referencia.

[0180] En algunas formas de realización, un anticuerpo o fragmento del mismo descrito en el presente documento (por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento) se mide a un nivel aumentado en el plasma en un tiempo definido (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 o más días) tras la administración (por ejemplo, de una dosis única), en relación con el nivel de un control en el mismo tiempo definido. Por ejemplo, en un tiempo definido tras la administración, un nivel de un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento es al menos aproximadamente el 10%, aproximadamente el 20%, aproximadamente el 30%, aproximadamente el 40%, aproximadamente el 50%, aproximadamente el 60%, aproximadamente el 70%, aproximadamente el 80%, aproximadamente el 90%, aproximadamente el 100%, aproximadamente el 150%, aproximadamente el 200%, aproximadamente el 300%, aproximadamente el 400% o aproximadamente el 500% más alto que un nivel correspondiente de un anticuerpo de referencia.

[0181] En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento tiene una vida media aumentada (por ejemplo, en relación con un control, por ejemplo, un anticuerpo de referencia, por ejemplo, un anticuerpo que compite de forma cruzada por la unión de ADGRE2), y por lo tanto el anticuerpo anti-ADGRE2 puede administrarse a un sujeto a intervalos de interdosos aumentados. Por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 puede administrarse una vez a la semana, cada dos semanas, cada tres semanas, cada cuatro semanas, cada 6 semanas, cada 8 semanas, o de mayor duración.

[0182] En algunas formas de realización, una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo o fragmento del mismo descrito en el presente documento (por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento) es de aproximadamente el 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10% o 5% de una cantidad eficaz de una proteína terapéutica de referencia, por ejemplo, un anticuerpo que compite de forma cruzada por la unión de ADGRE2). En algunas formas de realización, una sola dosis de un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento logra un efecto terapéutico comparable al de dos o más dosis de un anticuerpo de referencia.

[0183] En algunas formas de realización, un anticuerpo o fragmento del mismo descrito en el presente documento (por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento) se administra a una dosis que es aproximadamente el 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10% o 5% de la concentración de un antígeno diana (por ejemplo, ADGRE2) en el sujeto.

[0184] En algunas formas de realización, un anticuerpo o fragmento del mismo descrito en el presente documento (por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento) puede introducirse físicamente en un sujeto, utilizando cualquiera de los diversos métodos y sistemas de administración conocidos por los expertos en la técnica. Las vías de administración ejemplares para las formulaciones aquí divulgadas incluyen la administración intravenosa, intramuscular, subcutánea, intraperitoneal, espinal u

otras vías de administración parenteral, por ejemplo mediante inyección o infusión. La frase “administración parenteral”, tal como se utiliza en el presente documento, significa modos de administración distintos de la administración enteral y tópica, generalmente por inyección, e incluye, sin limitación, la

5 administración intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intralinfática intralesional, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, epidural e intraesternal, así como la electroporación in vivo. En algunas formas de realización, la formulación se

10 administra por una vía no parenteral, incluida una vía de administración tópica, epidérmica o mucosa, por ejemplo, por vía intranasal, vaginal, rectal, sublingual o tópica. La administración también puede realizarse, por ejemplo, una vez, una pluralidad de veces, y/o durante uno o más períodos prolongados.

[0185] En algunas formas de realización, un anticuerpo o fragmento del

15 mismo descrito en el presente documento (por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento) puede utilizarse en una serie de aplicaciones diagnósticas y terapéuticas. Por ejemplo, las versiones marcadas de forma detectable de los anticuerpos de ingeniería descritos en el presente documento pueden utilizarse en ensayos para detectar la presencia o la cantidad

20 de ADGRE2 en una muestra (por ejemplo, una muestra biológica). Los anticuerpos de ingeniería descritos en el presente documento pueden utilizarse en ensayos in vitro para estudiar la unión a ADGRE2. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento puede utilizarse como un control positivo en un ensayo diseñado para identificar

25 nuevos compuestos adicionales que sean útiles para tratar un trastorno asociado a ADGRE2. Por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento puede utilizarse como control positivo en un ensayo para identificar compuestos adicionales (por ejemplo, pequeñas moléculas, aptámeros o anticuerpos) que se unen a ADGRE2.

[0186] Los anticuerpos o los fragmentos de unión a antígeno de los mismos descritos en el presente documento pueden utilizarse en la monitorización de un sujeto, por ejemplo, un sujeto que tiene, se sospecha que tiene, está en riesgo de desarrollar, o está bajo tratamiento para una o más condiciones asociadas a ADGRE2. La monitorización puede incluir la determinación de la cantidad o actividad de ADGRE2 en un sujeto, por ejemplo, en el suero de un sujeto. En algunas formas de realización, la evaluación se lleva a cabo al menos una (1) hora, por ejemplo, al menos 2, 4, 6, 8, 12, 24 o 48 horas, o al menos 1 día, 2 días, 4 días, 10 días, 13 días, 20 días o más, o al menos 1 semana, 2 semanas, 4 semanas, 10 semanas, 13 semanas, 20 semanas o más, después de una administración de un anticuerpo anti-ADGRE2 como se describe en el presente documento. El sujeto puede ser evaluado en uno o más de los siguientes períodos: antes de comenzar el tratamiento; durante el tratamiento; o después de que se hayan administrado uno o más elementos del tratamiento. La evaluación puede incluir la evaluación de la necesidad de un tratamiento adicional, por ejemplo, la evaluación de si debe modificarse una dosis, la frecuencia de administración o la duración del tratamiento. También puede incluir la evaluación de la necesidad de añadir o abandonar una modalidad terapéutica seleccionada, por ejemplo, añadir o abandonar cualquiera de los tratamientos para un trastorno asociado a ADGRE2 descrito en el presente documento.

Formulaciones y administración

[0187] En varias formas de realización, los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos descritos en el presente documento (por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento) pueden incorporarse a una composición farmacéutica. Dicha composición farmacéutica puede ser útil, por ejemplo, para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades, por ejemplo, un trastorno asociado a ADGRE2. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse mediante métodos conocidos

por los expertos en la técnica (como los descritos en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17^a edición, ed., Alfonso R. Gennaro, Mack. Publishing Company, Easton, Pa. (1985)).

[0188] Se puede seleccionar un medio de administración adecuado en función de la edad y el estado de un sujeto. Una dosis única de la composición farmacéutica que contiene un anticuerpo o fragmento del mismo descrito en el presente documento (por ejemplo, un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento) puede seleccionarse en un intervalo de 0,001 a 1000 mg/kg de peso corporal. Por otra parte, puede seleccionarse una dosis en el intervalo de 0,001 a 100000 mg/peso corporal, pero la presente divulgación no se limita a dichos intervalos. La dosis y el método de administración varían en función del peso, la edad, el estado y similares del paciente, y pueden seleccionarse adecuadamente según las necesidades de los expertos en la técnica.

[0189] En varias formas de realización, una composición farmacéutica puede formularse para incluir un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de portadores farmacéuticamente aceptables incluyen, sin limitación, todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardadores de la absorción, y similares que son fisiológicamente compatibles. Las composiciones de la presente invención pueden incluir una sal farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, una sal de adición de ácido o una sal de adición de base.

[0190] En varias formas de realización, una composición que incluye un anticuerpo como se describe en el presente documento, por ejemplo, una formulación estéril para inyección, puede formularse de acuerdo con las prácticas farmacéuticas convencionales utilizando agua destilada para inyección como vehículo. Por ejemplo, puede utilizarse solución salina fisiológica o una solución isotónica que contenga glucosa y otros suplementos como D-sorbitol, D-manosa, D-manitol y cloruro de sodio como solución acuosa para inyección,

opcionalmente en combinación con un agente solubilizante adecuado, por ejemplo, alcohol como etanol y polialcohol como propilenglicol o polietilenglicol, y un tensioactivo no iónico como polisorbato 80™, HCO-50 y similares.

- [0191]** Como se divulga en el presente documento, una composición farmacéutica puede estar en cualquier forma conocida en la técnica. Dichas formas incluyen, por ejemplo, formas de dosificación líquidas, semisólidas y sólidas, como soluciones líquidas (por ejemplo, soluciones inyectables e infusibles), dispersiones o suspensiones, comprimidos, píldoras, polvos, liposomas y supositorios.
- [0192]** La selección o el uso de cualquier forma particular puede depender, en parte, del modo de administración y la aplicación terapéutica previstos. Por ejemplo, las composiciones que contienen una composición destinada a la administración sistémica o local pueden estar en forma de soluciones inyectables o infusibles. En consecuencia, las composiciones pueden formularse para su administración por vía parenteral (por ejemplo, inyección intravenosa, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular). Tal como se utiliza en el presente documento, la administración parenteral se refiere a modos de administración distintos de la administración enteral y tópica, generalmente por inyección, e incluyen, sin limitación, la administración intravenosa, intranasal, intraocular, pulmonar, intramuscular, intraarterial, intratecal intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intrapulmonar, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, epidural, intracerebral, intracraneal, intracarotídea e inyección e infusión intraesternal.
- [0193]** La vía de administración puede ser parenteral, por ejemplo, administración por inyección, administración transnasal, administración transpulmonar o administración transcutánea. La administración puede ser sistémica o local por inyección intravenosa, inyección intramuscular, inyección intraperitoneal, inyección subcutánea.

[0194] En varias formas de realización, una composición farmacéutica de la presente invención puede formularse como una solución, microemulsión, dispersión, liposoma u otra estructura ordenada adecuada para el almacenamiento estable a alta concentración. Las soluciones inyectables
5 estériles pueden prepararse incorporando una composición descrita en el presente documento en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una combinación de los ingredientes enumerados anteriormente, según sea necesario, seguido de una esterilización por filtro. Por lo general, las dispersiones se preparan incorporando una composición descrita en el presente documento
10 en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los demás ingredientes necesarios de los enumerados anteriormente. En el caso de los polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación incluyen el secado al vacío y la liofilización que producen un polvo de una composición descrita en el presente documento más cualquier
15 ingrediente adicional deseado (véase más adelante) a partir de una solución previamente filtrada y estéril de la misma. La fluidez adecuada de una solución puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento como la lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de la dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La absorción prolongada de
20 las composiciones inyectables puede conseguirse incluyendo en la composición un reactivo que retrase la absorción, por ejemplo, sales de monoestearato y gelatina.

[0195] Una composición farmacéutica puede administrarse por vía parenteral en forma de una formulación inyectable que comprende una solución
25 o suspensión estéril en agua u otro líquido farmacéuticamente aceptable. Por ejemplo, la composición farmacéutica puede formularse combinando adecuadamente la molécula terapéutica con vehículos o medios farmacéuticamente aceptables, como agua estéril y solución salina fisiológica, aceite vegetal, emulsionante, agente de suspensión, tensioactivo, estabilizador,
30 excipiente aromatizante, diluyente, vehículo, conservante, aglutinante, seguido

- de la mezcla en una forma de dosis unitaria requerida para las prácticas farmacéuticas generalmente aceptadas. La cantidad de ingrediente activo incluida en los preparados farmacéuticos es tal que se proporciona una dosis adecuada dentro del rango designado. Ejemplos no limitantes de líquido aceitoso
- 5 incluyen el aceite de sésamo y el aceite de soja, y puede combinarse con benzoato de bencilo o alcohol bencílico como agente solubilizante. Otros elementos que pueden incluirse son un tampón, como un tampón de fosfato o un tampón de acetato de sodio, un agente calmante, como el clorhidrato de procaína, un estabilizador, como el alcohol bencílico o el fenol, y un antioxidante.
- 10 La inyección formulada puede envasarse en una ampolla adecuada.

[0196] En algunas formas de realización, una composición puede formularse para el almacenamiento a una temperatura inferior a 0 °C (por ejemplo, -20 °C o -80 °C). En algunas formas de realización, la composición puede formularse para su almacenamiento hasta 2 años (por ejemplo, un mes,

15 dos meses, tres meses, cuatro meses, cinco meses, seis meses, siete meses, ocho meses, nueve meses, 10 meses, 11 meses, 1 año, 11/2 años o 2 años) a 2-8 °C (por ejemplo, 4 °C). Así, en algunas formas de realización, las composiciones descritas en el presente documento son estables en almacenamiento durante al menos 1 año a 2-8 °C (por ejemplo, 4 °C).

20 **[0197]** En casos particulares, una composición farmacéutica puede formularse como una solución. En algunas formas de realización, una composición puede formularse, por ejemplo, como una solución tamponada a una concentración adecuada y adecuada para el almacenamiento a 2-8 °C (por ejemplo, 4 °C).

25 **[0198]** Las composiciones que incluyen uno o más anticuerpos diseñados como se describe en el presente documento pueden formularse en composiciones de inmunoliposomas. Tales formulaciones pueden prepararse por métodos conocidos en la técnica. Los liposomas con un tiempo de circulación mejorado se divulgan en, por ejemplo, patente U.S. N.º 5.013.556.

- [0199]** En determinadas formas de realización, las composiciones pueden formularse con un portador que proteja el compuesto contra la liberación rápida, como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de entrega microencapsulados. Pueden utilizarse polímeros biodegradables y biocompatibles, como el acetato de vinilo y etileno, los polianhídridos, el ácido poliglicólico, el colágeno, los poliésteres y el ácido poliláctico. Muchos métodos para la preparación de tales formulaciones son conocidos en el arte. Véase, por ejemplo, J. R. Robinson (1978) "Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems", Marcel Dekker, Inc., Nueva York.
- 5
- [0200]** En algunas formas de realización, las composiciones pueden formularse en una composición adecuada para la administración intrapulmonar (por ejemplo, para la administración a través de un inhalador o nebulizador) a un mamífero como un humano. Los métodos para formular tales composiciones son bien conocidos en la técnica. Las formulaciones para inhaladores de polvo seco y los sistemas adecuados para la administración de las formulaciones también son conocidos en la técnica. La administración pulmonar puede ser oral y/o nasal. Los ejemplos de dispositivos farmacéuticos para la administración pulmonar incluyen inhaladores de dosis medida, inhaladores de polvo seco (DPI) y nebulizadores. Por ejemplo, una composición descrita en el presente documento puede administrarse a los pulmones de un sujeto mediante un inhalador de polvo seco. Estos inhaladores son dispositivos sin propulsores que suministran formulaciones de polvo seco dispersables y estables a los pulmones. Los inhaladores de polvo seco son bien conocidos en el arte de la medicina e incluyen, sin limitación: el TURBOHALER® (AstraZeneca; Londres, Inglaterra) el inhalador AIR® (ALKERMES®; Cambridge, Mass.); ROTAHALER® (GlaxoSmithKline; Londres, Inglaterra); y ECLIPSE™ (Sanofi-Aventis; París, Francia). Véanse también, por ejemplo, los números de publicación PCT WO 04/026380, WO 04/024156 y WO 01/78693. Los dispositivos DPI se han utilizado para la administración pulmonar de polipéptidos como la insulina y la hormona del crecimiento. En algunas formas de realización, una composición descrita en
- 10
- 15
- 20
- 25
- 30

el presente documento puede administrarse intrapulmonarmente mediante un inhalador de dosis medida. Estos inhaladores se basan en un propulsor para suministrar una dosis discreta de un compuesto a los pulmones. Otros dispositivos y métodos de administración intrapulmonar se exponen, por ejemplo, en las publicaciones de solicitud de patente US Nros. 20050271660 y 20090110679, cuyas divulgaciones se incorporan aquí por referencia en su totalidad.

[0201] En algunas formas de realización, las composiciones pueden formularse para su administración en el ojo, por ejemplo, en forma de una solución, suspensión o pomada farmacéuticamente aceptable. Una preparación para su uso en el tratamiento de un ojo puede estar en forma de una solución acuosa estéril que contiene, por ejemplo, ingredientes adicionales tales como, pero no limitados a conservantes, tampones, agentes de tonicidad, antioxidantes y estabilizadores, agentes humectantes o clarificantes no iónicos y agentes que aumentan la viscosidad. Un preparado como el descrito en el presente documento puede administrarse por vía tópica al ojo del sujeto que necesita tratamiento (por ejemplo, un sujeto afectado por la DMA) mediante métodos convencionales, por ejemplo, en forma de gotas, o bañando el ojo en una solución terapéutica, que contiene una o más composiciones.

[0202] Una variedad de dispositivos para introducir fármacos en la cavidad vítrea del ojo puede ser apropiada, en determinadas formas de realización, para la administración de una composición como la descrita en el presente documento. Por ejemplo, la Publicación US N.º 2002/0026176 describe un tapón que contiene un fármaco que puede insertarse a través de la esclerótica de forma que se proyecta en la cavidad vítrea para administrar el agente farmacéutico en la cavidad vítrea. En otro ejemplo, la patente US N.º 5.443.505 describe un dispositivo implantable para su introducción en un espacio supracoroideo o en una región avascular para la liberación sostenida de fármacos en el interior del ojo. Las patentes US Nros. 5.773.019 y 6.001.386 describen cada una un

dispositivo implantable de administración de fármacos acoplable a la superficie escleral de un ojo. Otros métodos y dispositivos (por ejemplo, un parche transescleral y la administración a través de lentes de contacto) para la administración de un agente terapéutico en el ojo se describen en, por ejemplo,

5 Ambati y Adamis (2002) *Prog Retin Eye Res* 21(2):145-151; Ranta y Urtti (2006) *Adv Drug Delivery Rev* 58(11):1164-1181; Barocas y Balachandran (2008) *Expert Opin Drug Delivery* 5(1):1-10(10); Gulsen y Chauhan (2004) *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45:2342-2347; Kim et al. (2007) *Ophthalmic Res* 39:244-254; y la publicación PCT N.º WO 04/073551, cuyas divulgaciones se incorporan aquí por referencia

10 en su totalidad.

[0203] En determinadas formas de realización, la administración de un anticuerpo como se describe en el presente documento se logra administrando a un sujeto un ácido nucleico que codifica el anticuerpo. Los ácidos nucleicos que codifican un anticuerpo terapéutico descrito en el presente documento pueden

15 incorporarse a un constructo génico que se utilizará como parte de un protocolo de terapia génica para suministrar ácidos nucleicos que pueden utilizarse para expresar y producir el anticuerpo dentro de las células. Las construcciones de expresión de tales componentes pueden administrarse en cualquier portador terapéuticamente eficaz, por ejemplo, cualquier formulación o composición capaz

20 de entregar eficazmente el gen componente a las células in vivo. Los enfoques incluyen la inserción del gen en cuestión en vectores virales, incluyendo retrovirus recombinantes, adenovirus, virus adenoasociados, lentivirus y virus del herpes simple-1 (HSV-1), o plásmidos recombinantes bacterianos o eucariotas. Los vectores virales pueden transfectar células directamente; el ADN plasmídico

25 puede entregarse con la ayuda de, por ejemplo, liposomas catiónicos (lipofectina) o derivados, conjugados de polilisina, gramicidina S, envolturas virales artificiales u otros portadores intracelulares de este tipo, así como la inyección directa de la construcción genética o la precipitación de CaPO_4 (véase, por ejemplo, el documento WO04/060407). Los ejemplos de retrovirus adecuados incluyen pLJ,

30 pZIP, pWE y pEM, que son conocidos por los expertos en la técnica (véase, por

ejemplo, Eglitis et al. (1985) Science 230:1395-1398; Danos y Mulligan (1988) Proc Natl Acad Sci USA 85:6460-6464; Wilson et al. (1988) Proc Natl Acad Sci USA 85:3014-3018; Armentano et al. (1990) Proc Natl Acad Sci USA 87:6141-6145; Huber et al. (1991) Proc Natl Acad Sci USA 88:8039-8043; Ferry et al. (1991) Proc Natl Acad Sci USA 88:8377-8381; Chowdhury et al. (1991) Science 254:1802-1805; van Beusechem et al. (1992) Proc Natl Acad Sci USA 89:7640-7644; Kay et al. (1992) Human Gene Therapy 3:641-647; Dai et al. (1992) Proc Natl Acad Sci USA 89:10892-10895; Hwu et al. (1993) J Immunol 150:4104-4115; U.S. Pat. Nos. 4,868,116 y 4,980,286; y PCT Publication Nos. WO89/07136, WO89/02468, WO89/05345, y WO92/07573). Otro sistema de administración de genes virales utiliza vectores derivados de adenovirus (véase, por ejemplo, Berkner et al. (1988) BioTechniques 6:616; Rosenfeld et al. (1991) Science 252:431-434; y Rosenfeld et al. (1992) Cell 68:143-155). Los vectores adenovirales adecuados derivados de la cepa de adenovirus Ad tipo 5 dl324 u otras cepas de adenovirus (por ejemplo, Ad2, Ad3, Ad7, etc.) son conocidos por los expertos en la técnica. Otro sistema de vector viral útil para la entrega del gen en cuestión es el virus adeno-asociado (AAV). Véase, por ejemplo, Flotte et al. (1992) Am J Respir Cell Mol Biol 7:349-356; Samulski et al. (1989) J Virol 63:3822-3828; y McLaughlin et al. (1989) J Virol 62:1963-1973.

[0204] En varias formas de realización, la administración subcutánea puede llevarse a cabo mediante un dispositivo, como una jeringa, una jeringa precargada, un autoinyector (por ejemplo, desechable o reutilizable), un inyector de pluma, un inyector de parche, un inyector portátil, una bomba de infusión de jeringa ambulatoria con equipos de infusión subcutánea, u otro dispositivo para combinar con el fármaco de anticuerpos para la inyección subcutánea.

[0205] Un sistema de inyección de la presente divulgación puede emplear una pluma de suministro como se describe en la Pat. N.º 5.308.341. Los dispositivos de pluma, más comúnmente utilizados para la autodistribución de insulina a pacientes con diabetes, son bien conocidos en la técnica. Dichos

dispositivos pueden comprender al menos una aguja de inyección (por ejemplo, una aguja de calibre 31 de unos 5 a 8 mm de longitud), suelen estar precargados con una o más dosis unitarias terapéuticas de una solución terapéutica, y son útiles para administrar rápidamente la solución a un sujeto con el menor dolor posible. Una pluma de administración de medicamentos incluye un soporte de vial en el que se puede recibir un vial de un medicamento terapéutico o de otro tipo. La pluma puede ser un dispositivo totalmente mecánico o puede combinarse con circuitos electrónicos para establecer y/o indicar con precisión la dosis de medicación que se inyecta al usuario. Véase, por ejemplo, patente U.S. N.º 6.192.891. En algunas formas de realización, la aguja del dispositivo de pluma es desechable y los kits incluyen una o más agujas de repuesto desechables. Los dispositivos de pluma adecuados para la administración de cualquiera de las composiciones presentadas actualmente también se describen en, por ejemplo, la Pat. Nros. 6.277.099; 6.200.296; y 6.146.361, cuyas divulgaciones se incorporan aquí por referencia en su totalidad. Un dispositivo de pluma basado en microagujas se describe, por ejemplo, en la patente U.S. N.º 7.556.615, cuya divulgación se incorpora aquí por referencia en su totalidad. Véase también el dispositivo inyector de precisión (PPI), MOLLY™, fabricado por Scandinavian Health Ltd.

[0206] En algunas formas de realización, una composición descrita en el presente documento puede administrarse terapéuticamente a un sujeto mediante una administración local. Tal como se utiliza en el presente documento, la “administración local” o “entrega local” puede referirse a la entrega que no depende del transporte de la composición o agente a su tejido o sitio de destino a través del sistema vascular. Por ejemplo, la composición puede administrarse por inyección o implantación de la composición o el agente o por inyección o implantación de un dispositivo que contenga la composición o el agente. En determinadas formas de realización, tras la administración local en las proximidades de un tejido o lugar de destino, la composición o el agente, o uno o más componentes de los mismos, pueden difundirse a un tejido o lugar de destino

que no sea el lugar de administración.

- [0207]** En algunas formas de realización, las composiciones proporcionadas en el presente documento están presentes en forma de dosificación unitaria, cuya forma de dosificación unitaria puede ser adecuada para la autoadministración. Dicha forma de dosificación unitaria puede proporcionarse dentro de un recipiente, típicamente, por ejemplo, un vial, cartucho, jeringa precargada o pluma desechable. Un dosificador como el descrito en la Pat. N.º 6.302.855, también puede utilizarse, por ejemplo, con un sistema de inyección como el descrito en el presente documento.
- 10 **[0208]** Una dosis adecuada de una composición descrita en el presente documento, cuya dosis es capaz de tratar o prevenir un trastorno en un sujeto, puede depender de una variedad de factores que incluyen, por ejemplo, la edad, el sexo y el peso de un sujeto a tratar y el compuesto inhibidor particular utilizado. Por ejemplo, puede ser necesaria una dosis diferente de una composición que
- 15 incluye un anticuerpo como el descrito en el presente documento para tratar a un sujeto con un trastorno asociado a ADGRE2 en comparación con la dosis de una formulación diferente de dicho anticuerpo. Otros factores que afectan a la dosis administrada al sujeto incluyen, por ejemplo, el tipo o la gravedad del trastorno. Por ejemplo, un sujeto con un trastorno asociado a ADGRE2 puede requerir la
- 20 administración de una dosis diferente a la de un sujeto con otro trastorno asociado a ADGRE2. Otros factores pueden incluir, por ejemplo, otros trastornos médicos que afecten al sujeto de forma concurrente o previa, el estado de salud general del sujeto, la disposición genética del sujeto, la dieta, el tiempo de administración, la tasa de excreción, la combinación de fármacos y cualquier otro
- 25 tratamiento adicional que se administre al sujeto. También debe entenderse que una dosis específica y un régimen de tratamiento para cualquier sujeto en particular también pueden ajustarse según el criterio del médico tratante.
- [0209]** Una composición descrita en el presente documento puede administrarse como una dosis fija, o en una dosis de miligramos por kilogramo

- (mg/kg). En algunas formas de realización, la dosis también puede elegirse para reducir o evitar la producción de anticuerpos u otras respuestas inmunitarias del huésped contra uno o más de los anticuerpos o un fragmento de unión a antígeno de los mismos en la composición. Aunque no pretenden ser limitantes, las dosis
- 5 ejemplares de un anticuerpo, como una composición descrita en el presente documento, incluyen, por ejemplo, 1-1000 mg/kg, 1-100 mg/kg, 0,5-50 mg/kg, 0,1-100 mg/kg, 0,5-25 mg/kg, 1-20 mg/kg y 1-10 mg/kg. Las dosis ejemplares de una composición descrita en el presente documento incluyen, sin limitación, 0,1 mg/kg, 0,5 mg/kg, 1,0 mg/kg, 2,0 mg/kg, 4 mg/kg, 8 mg/kg o 20 mg/kg.
- 10 **[0210]** Una solución farmacéutica puede incluir una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición descrita en el presente documento. Dichas cantidades efectivas pueden determinarse fácilmente por un experto en la técnica basándose, en parte, en el efecto de la composición administrada, o en el efecto combinatorio de la composición y uno o más agentes activos
- 15 adicionales, si se utiliza más de un agente. Una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición descrita en el presente documento también puede variar en función de factores tales como el estado de la enfermedad, la edad, el sexo y el peso del individuo, y la capacidad de la composición (y uno o más agentes activos adicionales) para provocar una respuesta deseada en el individuo, por ejemplo,
- 20 la mejora de al menos un parámetro de la condición, por ejemplo, la mejora de al menos un síntoma del trastorno asociado a ADGRE2. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición descrita en el presente documento puede inhibir (disminuir la gravedad o eliminar la aparición de) y/o prevenir un trastorno particular, y/o cualquiera de los síntomas del trastorno particular
- 25 conocido en la técnica o descrito en el presente documento. Una cantidad terapéuticamente eficaz es también aquella en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial de la composición se ve compensado por los efectos terapéuticamente beneficiosos.
- [0211]** Las dosis humanas adecuadas de cualquiera de las composiciones

descritas en el presente documento pueden evaluarse además en, por ejemplo, estudios de escalada de dosis de fase I. Véase, por ejemplo, van Gurp et al. (2008) *Am J Transplantation* 8(8):1711-1718; Hanouska et al. (2007) *Clin Cancer Res* 13(2, parte 1):523-531; y Hetherington et al. (2006) *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50(10): 3499-3500.

[0212] La toxicidad y la eficacia terapéutica de las composiciones pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos conocidos en cultivos celulares o animales de experimentación (por ejemplo, modelos animales de cualquiera de los trastornos asociados a ADGRE2). Estos procedimientos pueden utilizarse, por ejemplo, para determinar la LD₅₀ (la dosis letal para el 50% de la población) y la ED₅₀ (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50% de la población). La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la relación LD₅₀/ED₅₀. Se prefiere una composición descrita en el presente documento que presente un índice terapéutico elevado. Si bien pueden utilizarse composiciones que presenten efectos secundarios tóxicos, debe tenerse cuidado de diseñar un sistema de administración que dirija dichos compuestos al lugar del tejido afectado y que minimice el daño potencial a las células normales y, por tanto, reduzca los efectos secundarios.

[0213] Los expertos en la técnica apreciarán que los datos obtenidos a partir de los ensayos de cultivos celulares y los estudios en animales pueden utilizarse para formular un rango de dosis para su uso en humanos. Las dosis apropiadas de las composiciones descritas en el presente documento se encuentran generalmente dentro de un rango de concentraciones circulantes de las composiciones que incluyen la ED₅₀ con poca o ninguna toxicidad. La dosis puede variar dentro de este rango dependiendo de la forma de dosificación empleada y de la vía de administración utilizada. Para una composición descrita en el presente documento, la dosis terapéuticamente eficaz puede estimarse inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular. Se puede formular una dosis

en modelos animales para lograr un intervalo de concentración plasmática circulante que incluya el IO (es decir, la concentración del anticuerpo que logra una inhibición semimáxima de los síntomas) tal como se determina en el cultivo celular. Esta información puede utilizarse para determinar con mayor precisión las dosis útiles en los seres humanos. Los niveles en plasma pueden medirse, por ejemplo, mediante cromatografía líquida de alto rendimiento. En algunas formas de realización, por ejemplo, cuando se desea una administración local (por ejemplo, en el ojo o en una articulación), puede utilizarse el cultivo celular o el modelado animal para determinar la dosis necesaria para alcanzar una concentración terapéuticamente eficaz en el lugar.

Terapias combinadas

[0214] En varias formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 como se describe en el presente documento puede incluirse en un curso de tratamiento que incluye además la administración de al menos un agente adicional a un sujeto. En diversas formas de realización, un agente adicional administrado en combinación con un anticuerpo anti-ADGRE2 como se describe en el presente documento puede ser un agente de quimioterapia. En diversas formas de realización, un agente adicional administrado en combinación con un anticuerpo como el descrito en el presente documento puede ser un agente que inhibe la inflamación.

[0215] En algunas formas de realización, el anticuerpo anti-ADGRE2 es un fragmento variable de cadena única (scFv) con especificidad para ADGRE2 humano. En algunas formas de realización, el scFv anti-ADGRE2 puede conjugarse (por ejemplo, vincularse a) con un agente terapéutico (por ejemplo, un agente quimioterapéutico y un átomo radiactivo) para que se una a una célula cancerosa, entregue el agente terapéutico a la célula cancerosa y mate la célula cancerosa que expresa ADGRE2 humano. En algunas formas de realización, un anticuerpo anti-ADGRE2 se une a un agente terapéutico. En algunas formas de

realización, el agente terapéutico es un agente quimioterapéutico, una citoquina, un átomo radiactivo, un siARN o una toxina. En algunas formas de realización, el agente terapéutico es un agente quimioterapéutico. En algunas formas de realización, el agente es un átomo radiactivo.

5 **[0216]** En algunas formas de realización, los métodos pueden llevarse a cabo junto con otras terapias para los trastornos asociados a ADGRE2. Por ejemplo, la composición puede administrarse a un sujeto al mismo tiempo, antes o después de la quimioterapia. En algunas formas de realización, la composición puede administrarse a un sujeto al mismo tiempo, antes o después de un método
10 de terapia adoptiva.

[0217] En diversas formas de realización, un agente adicional administrado en combinación con un anticuerpo anti-ADGRE2 como se describe en el presente documento puede administrarse al mismo tiempo que un anticuerpo anti-ADGRE2, en el mismo día que un anticuerpo anti-ADGRE2, o en
15 la misma semana que un anticuerpo anti-ADGRE2. En diversas formas de realización, un agente adicional administrado en combinación con un anticuerpo anti-ADGRE2 como se describe en el presente documento puede administrarse en una única formulación con un anticuerpo anti-ADGRE2. En determinadas formas de realización, un agente adicional administrado de manera
20 temporalmente separada de la administración de un anticuerpo anti-ADGRE2 como se describe en el presente documento, por ejemplo, una o más horas antes o después, uno o más días antes o después, una o más semanas antes o después, o uno o más meses antes o después de la administración de un anticuerpo anti-ADGRE2. En diversas formas de realización, la frecuencia de
25 administración de uno o más agentes adicionales puede ser igual, similar o diferente a la frecuencia de administración de un anticuerpo anti-ADGRE2 como se describe en el presente documento.

[0218] Dentro de la terapia combinada se incluye un régimen de tratamiento que incluye la administración de dos anticuerpos distintos como se

describe en el presente documento y/o un régimen de tratamiento que incluye la administración de un anticuerpo como se describe en el presente documento mediante una pluralidad de formulaciones y/o vías de administración.

5 [0219] En algunas formas de realización, las composiciones pueden formularse con uno o más agentes terapéuticos adicionales, por ejemplo, terapias adicionales para tratar o prevenir un trastorno asociado a ADGRE2 (por ejemplo, un cáncer o un trastorno autoinmune) en un sujeto. Los agentes adicionales para tratar un trastorno asociado a ADGRE2 en un sujeto variarán en función del trastorno particular que se trate, pero pueden incluir, sin limitación, rituximab, 10 ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, prednisona, osfamida, carboplatino, etopósido, dexametasona, citarabina, cisplatino, ciclofosfamida o fludarabina.

[0220] Una composición descrita en el presente documento puede reemplazar o aumentar una terapia administrada previamente o actualmente. Por ejemplo, al tratar con una composición descrita en el presente documento, la 15 administración de uno o más agentes activos adicionales puede cesar o disminuir, por ejemplo, administrarse a niveles más bajos, por ejemplo, niveles más bajos de un anticuerpo de referencia que compite de forma cruzada por la unión de ADGRE2) tras la administración de un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento. En algunas formas de realización, puede mantenerse 20 la administración de la terapia anterior. En algunas formas de realización, la terapia anterior se mantendrá hasta que el nivel de la composición alcance un nivel suficiente para proporcionar un efecto terapéutico. Las dos terapias pueden administrarse en combinación.

Tecnología de genes recombinantes

25 [0221] De acuerdo con la presente divulgación, se pueden emplear técnicas convencionales de biología molecular, microbiología y ADN recombinante dentro de la habilidad del arte. Tales técnicas se describen en la literatura (véase, por ejemplo, Sambrook, Fritsch & Maniatis, Molecular Cloning:

- A Laboratory Manual, Second Edition (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; DNA Cloning: A Practical Approach, Volumes I y II (D. N. Glover ed. 1985); Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait ed. 1984); Nucleic Acid Hybridization (B. D. Hames & S. J. Higgins eds. (1985));
- 5 Transcription And Translation (B. D. Hames & S. J. Higgins, eds. (1984)); Animal Cell Culture (R. I. Freshney, ed. (1986)); Immobilized Cells and Enzymes (IRL Press, (1986)); B. Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); F. M. Ausubel et al. (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc. (1994).
- 10 **[0222]** La expresión recombinante de un gen, como un ácido nucleico que codifica un polipéptido, como un anticuerpo anti-ADGRE2 descrito en el presente documento, puede incluir la construcción de un vector de expresión que contenga un ácido nucleico que codifique el polipéptido. Una vez obtenido el polinucleótido, puede producirse un vector para la producción del polipéptido mediante
- 15 tecnología de ADN recombinante utilizando técnicas conocidas en la técnica. Pueden utilizarse métodos conocidos para construir vectores de expresión que contengan secuencias codificadoras de polipéptidos y señales de control transcripcional y traslacional adecuadas. Estos métodos incluyen, por ejemplo, técnicas de ADN recombinante in vitro, técnicas sintéticas y recombinación
- 20 genética in vivo.
- [0223]** Un vector de expresión puede transferirse a una célula huésped mediante técnicas convencionales, y las células transfectadas pueden entonces cultivarse mediante técnicas convencionales para producir polipéptidos.
- [0224]** Todas las publicaciones, solicitudes de patentes, patentes y otras
- 25 referencias mencionadas en el presente documento se incorporan por referencia en su totalidad. Además, los materiales, métodos y ejemplos son sólo ilustrativos y no pretenden ser limitantes. A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que los entendidos comúnmente por una persona con

conocimientos ordinarios de la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque se pueden utilizar métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento en la práctica o en las pruebas de la presente invención, en el presente documento se describen métodos y materiales
5 adecuados.

EJEMPLOS

[0225] Los siguientes ejemplos describen algunos de los modos preferidos de hacer y practicar la presente invención. Sin embargo, debe entenderse que estos ejemplos son sólo para fines ilustrativos y no pretenden limitar el alcance
10 de la invención.

Ejemplo 1. Identificación y caracterización de anticuerpos anti-ADGRE2

[0226] El presente ejemplo demuestra la derivación y caracterización de las afinidades de unión de los anticuerpos anti-ADGRE2.

[0227] Los anticuerpos se desarrollaron utilizando la tecnología de
15 hibridoma, que comprende 24 secuencias humanizadas del clon de referencia 1 de ratón. Los anticuerpos se seleccionaron basándose en la expresión como variantes de proteína recombinante, la unión a las células linfoma EL4 murinas sobreexpresadas ADGRE2 por FACS y la puntuación de inmunogenicidad, se seleccionaron 18 anticuerpos recombinantes humanizados que representaban
20 una gama de afinidades de unión a ADGRE2.

Secuencia del anticuerpo anti-ADGRE2 de referencia 1

[0228] La secuencia de aminoácidos del anticuerpo anti-ADGRE2 de referencia 1 se determinó mediante la digestión con endoproteasas y el posterior análisis de los grupos de péptidos por LC-MS/MS. Brevemente, las cadenas
25 pesadas y ligeras del anticuerpo se separaron por SDS-PAGE en condiciones reductoras. Tras la tinción con azul de Coomassie, las bandas respectivas se cortaron del gel y se digirieron con endopeptidasas Asp N, quimotripsina, tripsina

y elastasa. Además, el anticuerpo fue digerido en solución por pepsina. El pool de péptidos generado a partir de la digestión se analizó en un analizador Orbitrap (LC-MS/MS Q-Exactive, ThermoFisher). Los datos LC-MS/MS se procesaron utilizando el software de secuenciación de anticuerpos PEAKS AB.

- 5 **[0229]** Las secuencias de codificación del anticuerpo de Referencia 1 anti-ADGRE2 VH y VL se derivaron de las respectivas secuencias de la cadena del anticuerpo y se clonaron con una región constante IgG2. El anticuerpo de Referencia 1 recombinante se expresó en células HEK293 y el anticuerpo purificado se comparó con el anticuerpo de Referencia 1 disponible en el mercado
- 10 mediante un análisis de resonancia de plasmón superficial (SPR) K_D utilizando una proteína producida recombinantemente que comprende el dominio extracelular de ADGRE2, así como se llevó a cabo la determinación de la EC50 para la unión a células que expresan ADGRE2. Para el posterior trabajo de cribado de anticuerpos, se utilizó el anticuerpo recombinante purificado de
- 15 referencia 1 como anticuerpo de referencia.

Humanización de los dominios variables del anticuerpo Anti-ADGRE2 (EMRE2) de referencia 1

- [0230]** Se utilizó un programa bioinformático de ingeniería humana predictiva llamado método de humanización Xoma que comprende el software
- 20 “TSF Humanization”. El programa de software utiliza la base de datos de líneas germinales de Kabat para diseñar contra y humanizar el clon murino de referencia 1. Se generó un panel de variantes de secuencias humanas que representaban las mejores coincidencias de líneas germinales humanas de la base de datos Kabat mediante alineación(es) de secuencias por pares para introducir
- 25 mutaciones puntuales de aminoácidos en la secuencia murina para “aflorar” en una secuencia humana. Esto se llevó a cabo para las cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo murino, como se muestra en las FIG. 1 y 2. La descripción original de la recomendación de humanización o ingeniería humana se discute en la guía del usuario del software Xoma y en la patente estadounidense # US5766886A,

incorporada aquí por referencia en su totalidad.

Generación de variantes humanizadas para el clon de referencia 1

5 [0231] Se seleccionó la mejor coincidencia de la línea germinal y se extrajeron del alineamiento las definiciones de CDR de Kabat. Se evaluó el impacto de cada una de ellas sobre la unión y la exposición al disolvente y, en consecuencia, se seleccionó una secuencia “humanizada”. También se realizó una proyección bidimensional de la relación secuencia-estructura (FIG. 3).

10 [0232] Se humanizó por CDR un clon ejemplar injertando las CDR más grandes en la línea germinal HC humana IGHV1-46*01 y en la línea germinal Kappa IGKV3D-20*01. Se utilizó un enlazador GS más largo para permitir una mayor flexibilidad del par HV/LC. El enlazador utilizó los 3 primeros aminoácidos del dominio constante HC seguido del enlazador estándar 3xGS (SEQ ID NO 47): ASTGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 46).

Ejemplo 2. Unión en la célula de los anticuerpos anti-ADGRE2

15 [0233] Este ejemplo ilustra la unión en la célula para los anticuerpos anti-ADGRE2, medida por citometría de flujo.

20 [0234] La unión en la célula para los anticuerpos anti-ADGRE2 se evaluó mediante citometría de flujo en las células E4 que sobreexpresan ADGRE2. Se probó la unión de cada uno de los scFvs a ADGRE2 y se comparó con el mAb de referencia 1.

[0235] Brevemente, se colocaron 100.000 células por pozo en una placa de 96 pozos con fondo en V, se diluyeron los scFv a 200 nMscFv y luego 1:4 en serie hasta 0,01 nM. Una titulación dependiente de la dosis de los scFvs validó el plegamiento y la unión de los scFvs recombinantes a ADGRE2.

25 [0236] Se compararon las afinidades de EC50 para interpretar mejor cualquier diferencia observada in vivo que pudiera ser causada por variaciones en las afinidades resultantes del proceso de humanización.

[0237] Los valores aproximados de EC50 se determinaron utilizando la ecuación $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + 10^{((\text{LogEC50} - X) * \text{HillSlope}))}$

[0238] $((\text{LogEC50} - X) * \text{HillSlope})$ donde los parámetros ajustados se definen como sigue: Bottom, la meseta inferior que describe la unión mínima alcanzable; Top, la meseta superior que describe la unión máxima alcanzable; LogEC50, el punto de inflexión de la curva dosis-respuesta también conocido como la concentración que produce una respuesta medio-máxima; y Hill-Slope, la pendiente de la curva dosis-respuesta.

[0239] Tabla 1. Afinidad de unión del scFv anti-ADGRE2

scFv	Comprende la correspondiente SEQ ID No:	Afinidad (EC50 nm)
A	22	16,4
B	20	55,3
E	15 y 16	10,6
K	19	93,8
M	17 y 18	16,4
N	21	53,2
Referencia 1		10,1

10 **[0240]** Como se muestra en la Tabla 1, los valores de EC50 calculados a partir de las curvas muestran que cada uno de los anticuerpos se une a las células con afinidades de 10,6 a 93,8.

[0241] En general, los resultados mostraron que los scFv humanizados probados tenían valores de EC50 comparables al estándar de referencia 1.

15 Ejemplo 3. Análisis de inmunogenicidad in silico

[0242] Este ejemplo ilustra el análisis de inmunogenicidad in silico.

[0243] Brevemente, se analizaron las secuencias de scFv de la Referencia

1 de ratón con los scFvs humanizados mediante un software de predicción de presentación de MHC I y MHC II humano, en base a varias bases de datos de predicción IEDB, SMN-Align, NN-Align.

[0244] Tabla 1. Inmunogenicidad de los anticuerpos anti-ADGRE2

scFv	Comprende SEQ ID No:	Inmunogenicidad		
		MHC I	MHC II	MHC I + MHC II
A	22	533	645	1178
B	20	686	876	1562
E	15 y 16	500	685	1185
K	19	647	995	1642
M	17 y 18	628	844	1472
N	21	643	941	1584
Referencia 1		886	1183	2069

- 5 **[0245]** Como se muestra en la Tabla 2, la inmunogenicidad del anticuerpo se caracterizó en base a la unión al MHC I o al MHC II o a la unión tanto al MHC I como al MHC II. En general, los datos predicen una baja inmunogenicidad para todos los anticuerpos humanizados probados.

Ejemplo 4. Ensayo de panel de selección fuera de objetivo

- 10 **[0246]** Este ejemplo ilustra la especificidad de los scFvs anti-ADGRE2 en un ensayo de unión fuera del objetivo.

- [0247]** Brevemente, se probaron variantes de scFv humanizadas para la unión fuera del objetivo. Tres clones de scFv de ADGRE2 de ejemplo se ejecutaron en el “Ensayo de reducción” para examinar la unión a más de 3000
15 receptores humanos. En el ensayo de reducción, cuanto mayor sea la unión, mayor será la probabilidad de que la interacción sea real. Por lo general, los resultados etiquetados como “V. débil” tienen poca probabilidad de ser interacciones reales.

[0248] Los resultados mostraron que todos los clones probados no mostraron ninguna unión fuera del objetivo. Por lo tanto, estos clones resultaron ser altamente específicos para ADGRE2.

5 Ejemplo 5. Secuenciación de clones de anticuerpos anti-ADGRE2

[0249] Los anticuerpos anti-ADGRE2 fueron secuenciados y las secuencias CDR se muestran en la Tabla 3 (secuencias CDR de la cadena pesada) y la Tabla 4 (secuencias CDR de la cadena ligera). Estos análisis confirmaron las secuencias CDR de los anticuerpos humanizados.

10 **[0250]** Tabla 3. Secuencias CDR de la cadena pesada

Clon	Línea germinal	CDR1	CDR2	CDR3
K	IGHV1-46*01	GYTFTNYW (SEQ ID NO: 1)	VYPGDGDT (SEQ ID NO: 2)	ARGFTAYGMDY (SEQ ID NO: 3)
B	IGHV1-2*02	GYTFTNYW (SEQ ID NO: 1)	VYPGDGDT (SEQ ID NO: 2)	ARGFTAYGMDY (SEQ ID NO: 3)
N	IGHV1-46*01	GYTFTNYW (SEQ ID NO: 1)	VYPGDGDT (SEQ ID NO: 2)	ARGFTAYGMDY (SEQ ID NO: 3)
A	IGHV1-46*01	GYTFTNYW (SEQ ID NO: 1)	VYPGDGDT (SEQ ID NO: 2)	ARGFTAYGMDY (SEQ ID NO: 3)

			NO: 2)	
--	--	--	--------	--

[0251] Tabla 4. Secuencias CDR de cadena ligera

Clon #	Línea germinal	CDR1	CDR2	CDR3
A	IGKV3D-20*01	SSVSY (SEQ ID NO: 4)	DTS (SEQ ID NO: 5)	QQWSSNPLT (SEQ ID NO: 6)
B	IGKV3D-20*01	SSVSY (SEQ ID NO: 4)	DTS (SEQ ID NO: 5)	QQWSSNPLT (SEQ ID NO: 6)
N	IGKV3D-20*01	SSVSY (SEQ ID NO: 4)	DTS (SEQ ID NO: 5)	QQWSSNPLT (SEQ ID NO: 6)
K	IGKV3-11*01	SSVSY (SEQ ID NO: 4)	DTS (SEQ ID NO: 5)	QQWSSNPLT (SEQ ID NO: 6)

Otras formas de realización

- 5 **[0252]** Aunque se describen en el presente documento varias formas de realización de la presente invención, la presente divulgación y los ejemplos

pueden modificarse para proporcionar otros métodos y composiciones de esta invención. Por lo tanto, se apreciará que el alcance de esta invención debe definirse por las reivindicaciones adjuntas, además de las formas de realización específicas que se han representado a modo de ejemplo. Todas las referencias
5 citadas en el presente documento se incorporan por referencia.

10

15

20