

PROTEÍNAS DE UNIÓN A NKG2D, CD16 Y CEACAM5

CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La invención se refiere a proteínas de unión multiespecíficas que se unen a NKG2D, CD16 y CEACAM5.

ANTECEDENTES

[0002] A pesar de los importantes trabajos de investigación, el cáncer continúa siendo una carga clínica y financiera importante en países de todo el mundo. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), es la segunda causa principal de muerte. La cirugía, radioterapia, quimioterapia, bioterapia, inmunoterapia, hormonoterapia, el trasplante de células madre y la medicina de precisión, se encuentran entre las modalidades de tratamiento existentes. A pesar de la amplia investigación en estas áreas, aún no se ha encontrado una solución curativa eficaz, especialmente para los cánceres más agresivos. Además, muchas de las modalidades de tratamiento contra el cáncer existentes tienen efectos secundarios adversos sustanciales.

[0003] Las inmunoterapias contra el cáncer son convenientes porque son muy específicas y pueden facilitar la destrucción de las células cancerosas utilizando el propio sistema inmunitario del paciente. Las proteínas de fusión, como los acopladores biespecíficos de linfocitos T, son inmunoterapias contra el cáncer descritas en la bibliografía, que se unen a las células tumorales y a los linfocitos T para facilitar la destrucción de las células tumorales. En la bibliografía se han descrito anticuerpos que se unen a determinados antígenos asociados a tumores. Véanse, p. ej., los documentos WO 2016/134371 y WO 2015/095412.

[0004] Los linfocitos citolíticos naturales (NK, *natural killer*) son un componente del sistema inmunitario innato y constituyen aproximadamente el 15 % de los linfocitos circulantes. Las células NK se infiltran prácticamente en todos los tejidos y se caracterizaron originalmente por su capacidad para destruir células tumorales de forma eficaz sin necesidad de sensibilización previa. Las células NK activadas destruyen células diana a través de medios similares a los de los linfocitos T citotóxicos – es decir, a través de gránulos citolíticos que contienen perforina y granzimas, así como a través de vías de receptores de muerte. Las células NK activadas también secretan citocinas inflamatorias como IFN- γ y quimiocinas que promueven el reclutamiento de otros leucocitos en el tejido diana.

[0005] Las células NK responden a las señales a través de una variedad de receptores inhibidores y activadores en su superficie. Por ejemplo, cuando las células NK se encuentran con autocélulas sanas, su actividad se inhibe a través de la activación de los receptores

inmunoglobulínicos de linfocitos citolíticos (KIR). Como alternativa, cuando las células NK encuentran células extrañas o células cancerosas, se activan a través de sus receptores activadores (p. ej., NKG2D, NCR, DNAM1). Las células NK también se activan mediante la región constante de algunas inmunoglobulinas a través de CD16, un receptor de Fc (receptor de Fc γ III) presente en la superficie de la célula NK. La sensibilidad general de las células NK a la activación, depende de la suma de señales estimuladoras e inhibidoras. NKG2D es una proteína transmembrana de tipo II que se expresa esencialmente en todos los linfocitos citolíticos naturales en los que la NKG2D ejerce como un receptor activador. NKG2D también se encuentra en los linfocitos T, donde actúa como un receptor coestimulador. La capacidad de modular la función de las células NK a través de NKG2D es útil en varios contextos terapéuticos, incluida la neoplasia maligna.

[0006] La molécula de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario 5 (CEACAM5), también conocida como antígeno del meconio 100, CEA, antígeno carcinoembrionario, CD66e o antígeno CD66e, es un miembro de la superfamilia de las inmunoglobulinas. Es una glucoproteína grande de la superficie celular, y ejerce principalmente como una molécula de adhesión celular que actúa como mediadora en el contacto intercelular. Además de sus funciones en la adhesión y migración celular, CEACAM5 se encuentra sobreexpresada en un alto porcentaje de cánceres humanos, incluyendo el 90 % de los cánceres gastrointestinal, colorrectal y pancreático, el 70 % de las células de cáncer de pulmón no microcítico y el 50 % de los cánceres de mama. Se ha demostrado que la sobreexpresión de CEACAM5 se correlaciona positivamente con tumorigenicidad y aumento de invasividad tumoral.

[0007] Aunque se están desarrollando proteínas (p. ej., anticuerpos) que se unen a CEACAM5 como posibles terapias contra el cáncer, se enfrentan a importantes retos. Algunos de estos retos, tales como altos niveles de homología con otros miembros de la familia CEACAM, bajo porcentaje de homología con CEACAM5 de *cynomolgus* (cyno) (actualmente *Macaca fascicularis*, nombre común en español macaco cangrejero) y la naturaleza sumamente glucosilada de la proteína, conducen a dificultades para conseguir tanto la monoespecificidad para CEACAM5 de ser humano como la reactividad cruzada con CEACAM5 de cyno. Estos retos resaltan la necesidad en el campo de anticuerpos nuevos y útiles para su uso en el tratamiento del cáncer relacionado con CEACAM5.

SUMARIO

[0008] La invención proporciona proteínas de unión multiespecíficas que se unen al receptor

NKG2D y a CD16 en linfocitos citolíticos naturales, y al antígeno asociado a tumor EACAM5 (molécula de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario 5). Dichas proteínas pueden acoplarse a más de un tipo de receptor activador de NK y pueden bloquear la unión de ligandos naturales con NKG2D. En determinadas realizaciones, las proteínas pueden actuar como agonistas de células NK de seres humanos. En algunas realizaciones, las proteínas pueden actuar como agonistas de células NK de seres humanos y de otras especies como roedores y macacos *cynomolgus*. También se proporcionan formulaciones que contienen una cualquiera de las proteínas descritas en el presente documento; células que contienen uno o más ácidos nucleicos que expresan las proteínas y métodos para potenciar la muerte de células tumorales utilizando las proteínas.

[0009] Por consiguiente, en un aspecto, la presente divulgación proporciona una proteína que comprende un primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D, un segundo sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5, y un tercer sitio de unión a antígeno, o un dominio Fc de anticuerpo o una parte del mismo, en cada caso (es decir, un tercer sitio de unión a antígeno, un dominio o una parte Fc de anticuerpo) que se une a CD16.

[0010] En algunas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5 comprende un dominio variable de cadena pesada (VH, *heavy-chain variable*) que comprende una región determinante de complementariedad (CDR, *complementarity-determining region*) 1 (CDRH1), CDRH2 y CDRH3, en donde la CDRH1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 3 y 102, la CDRH2 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 37, 104 y 718 y la CDRH3 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 6, 38 y 105.

[0011] En algunas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5 comprende un dominio variable de cadena ligera (VL, *light-chain variable*) que comprende una CDR 1 (CDRL1), CDRL2 y CDRL3, en donde la CDRL1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 7, 40 y 107, la CDRL2 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 8, 41 y 108 y la CDRL3 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 9, 42 y 109.

[0012] En algunas realizaciones, la CDRH1, CDRH2 y CDRH3 del segundo sitio de unión a antígeno son: (i) las SEQ ID NO: 3, 37 y 38, respectivamente; (ii) las SEQ ID NO: 3, 718 y 6, respectivamente; o (iii) las SEQ ID NO: 102, 104 y 105, respectivamente.

[0013] En algunas realizaciones, la CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del segundo sitio de unión a

antígeno son: (i) las SEQ ID NO: 7, 8 y 9, respectivamente; (ii) las SEQ ID NO: 40, 41 y 42, respectivamente; o (iii) las SEQ ID NO: 107, 108 y 109, respectivamente.

[0014] En algunas realizaciones, la CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 son: (i) las SEQ ID NO: 3, 37, 38, 40, 41 y 42, respectivamente; (ii) las SEQ ID NO: 3, 718, 6, 7, 8 y 9, respectivamente; o (iii) las SEQ ID NO: 102, 104, 105, 107, 108 y 109, respectivamente.

[0015] En algunas realizaciones, el VH (*heavy-chain*, cadena ligera) comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 704, 708, 711 y 715; y el VL (*light-chain*, cadena pesada) comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 591, 705, 712 y 716.

[0016] En algunas realizaciones, el VH y el VL son: (i) las SEQ ID NO: 704 y 705, respectivamente; (ii) las SEQ ID NO: 708 y 591, respectivamente; (iii) las SEQ ID NO: 711 y 712, respectivamente; o (iv) las SEQ ID NO: 715 y 716, respectivamente.

[0017] En algunas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno es un fragmento variable monocatenario (scFv, *single-chain variable fragment*), en donde el scFv comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 703, 707, 710 y 714.

[0018] En algunas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno se une a una variante de CEACAM5 humana que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 391.

[0019] En algunas realizaciones, la proteína comprende un dominio Fc de anticuerpo o una parte del mismo que se une a CD16.

[0020] En algunas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D es un fragmento Fab, y el segundo sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5 es un scFv. En algunas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D es un scFv, y el segundo sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5 es un fragmento Fab.

[0021] En algunas realizaciones, la proteína que comprende: (i) un primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D, (ii) un segundo sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5 y (iii) un tercer sitio de unión a antígeno, o un dominio Fc de anticuerpo o una parte del mismo, en cada caso, que se une a CD16, comprende además un sitio de unión a antígeno adicional que se une a CEACAM5. En algunas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D es un scFv, y cada uno del segundo sitio de unión a antígeno y de los sitios de unión a antígeno adicionales que se unen a CEACAM5, es un fragmento Fab. En algunas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D es un scFv, y cada uno del segundo sitio de unión a antígeno y de los sitios de unión a antígeno adicionales que se unen a CEACAM5, es un scFv.

[0022] En algunas realizaciones, el scFv que se une a CEACAM5 y/o el scFv que se une a NKG2D comprenden un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera.

[0023] En algunas realizaciones, el scFv está ligado a un dominio Fc de anticuerpo o a una parte del mismo que se une a CD16, a través de una bisagra que comprende Ala-Ser o Gly-Ser. En algunas realizaciones, la bisagra comprende además la secuencia de aminoácidos Thr-Lys-Gly. En realizaciones específicas, la secuencia Thr-Lys-Gly está en el extremo N (*N-terminal*) o en el extremo C (*C-terminal*) con respecto a Ala-Ser o Gly-Ser.

[0024] En algunas realizaciones, el dominio variable de cadena pesada del scFv forma un puente disulfuro con el dominio variable de cadena ligera del scFv. En algunas realizaciones, el puente disulfuro se forma entre el C44 del dominio variable de cadena pesada y el C100 del dominio variable de cadena ligera, numerados según el esquema de numeración de Kabat.

[0025] En algunas realizaciones, el dominio variable de cadena pesada del scFv está ligado al dominio variable de cadena ligera del scFv a través de un enlazador flexible. En algunas realizaciones, el enlazador flexible comprende (G4S)₄ (SEQ ID NO: 532).

[0026] En algunas realizaciones, el dominio variable de cadena pesada del scFv está situado en el extremo C (*C-terminus*) del dominio variable de cadena ligera. En algunas realizaciones, el dominio variable de cadena pesada del scFv está situado en el extremo N del dominio variable de cadena ligera. En algunas realizaciones, el Fab no está situado entre un sitio de unión a antígeno y el dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo.

[0027] En algunas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % idéntica a una secuencia de VH seleccionada de la Tabla 1 y un VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % idéntica a una secuencia de VL seleccionada de la Tabla 1, en donde la secuencia de VH y la secuencia de VL seleccionadas de la Tabla 1 son del mismo clon. En algunas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 494 o 495, 496 y 524 o 525, respectivamente; y un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 530, 224 y 499, respectivamente.

[0028] En algunas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende (i) un VH que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 494 o 495, 496 y 509 o 510, respectivamente; y un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ

ID NO: 530, 224 y 499, respectivamente. En algunas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una CDRH1, CDRH2 y CDRH3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 495, 496 y 510, respectivamente; y un VL que comprende una CDRL1, CDRL2 y la CDRL3 que comprenden las secuencias de las SEQ ID NO:530, 224 y 499, respectivamente. En algunas realizaciones, el VH del primer sitio de unión a antígeno comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % idéntica a la SEQ ID NO:508, y el VL del primer sitio de unión a antígeno comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % idéntica a la SEQ ID NO:493.

[0029] En algunas realizaciones, el VH del primer sitio de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:508, y el VL del primer sitio de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:493.

[0030] En algunas realizaciones, el dominio Fc de anticuerpo es un dominio Fc de anticuerpo de IgG1 humano. En algunas realizaciones, el dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % idéntica a la SEQ ID NO:531.

[0031] En algunas realizaciones, al menos una cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una o más mutaciones, con respecto a la SEQ ID NO:531, en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 y K439, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

[0032] En algunas realizaciones, al menos una cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una o más mutaciones, con respecto a la SEQ ID NO:531, seleccionadas del grupo que consiste en: Q347E, Q347R, Y349S, Y349K, Y349T, Y349D, Y349E, Y349C, L351K, L351D, L351Y, S354C, E356K, E357Q, E357L, E357W, K360E, K360W, Q362E, S364K, S364E, S364H, S364D, T366V, T366I, T366L, T366M, T366K, T366W, T366S, L368E, L368A, L368D, K370S, N390D, N390E, K392L, K392M, K392V, K392F, K392D, K392E, T394F, D399R, D399K, D399V, S400K, S400R, D401K, F405A, F405T, Y407A, Y407I, Y407V, K409F, K409W, K409D, T411D, T411E, K439D y K439E, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

[0033] En algunas realizaciones, una cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una o más mutaciones, con respecto a la SEQ ID NO:531, en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 y K439, y la otra cadena polipeptídica del dominio Fc o la parte del mismo comprende una o más mutaciones, con respecto a la SEQ ID NO:531, en una o más posiciones seleccionadas del

grupo que consiste en: Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, D401, F405, Y407, K409, T411 y K439, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

[0034] En algunas realizaciones, una cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende las sustituciones K360E y K409W con respecto a la SEQ ID NO:531, y la otra cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende las sustituciones Q347R, D399V y F405T con respecto a la SEQ ID NO:531, numeradas según el sistema de numeración de la UE. En algunas realizaciones, una cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una sustitución Y349C con respecto a la SEQ ID NO:531, y la otra cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una sustitución S354C con respecto a la SEQ ID NO:531, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

[0035] Otro aspecto de la presente divulgación proporciona una proteína que comprende: (a) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:549; (b) un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:550; y (c) un tercer polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO:702, 706, 709 y 713.

[0036] Otro aspecto de la presente divulgación proporciona una molécula de ácido nucleico aislada, o una pluralidad de moléculas de ácido nucleico aisladas, que codifica cualquiera de las proteínas desveladas.

[0037] Otro aspecto de la presente divulgación proporciona un vector de expresión que comprende una molécula de ácido nucleico aislada, o una pluralidad de moléculas de ácido nucleico aisladas, que codifica cualquiera de las proteínas desveladas.

[0038] Otro aspecto de la presente divulgación proporciona una pluralidad de vectores de expresión que comprende la pluralidad de moléculas de ácido nucleico aisladas.

[0039] Otro aspecto de la presente divulgación proporciona una célula hospedadora que comprende uno o más vectores de expresión. En algunas realizaciones, la célula hospedadora comprende una pluralidad de vectores de expresión. En algunas realizaciones, la célula hospedadora es una célula de ovario de hámster chino (CHO, *chinese hamster ovary*).

[0040] Otro aspecto de la divulgación proporciona un método de producción de una proteína que comprende: (a) un primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D; (b) un segundo sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5; y (c) un tercer sitio de unión a antígeno, o un dominio Fc de anticuerpo o una parte del mismo, que se une a CD16; en donde el método comprende: (i) proporcionar una célula hospedadora de la divulgación; (ii) cultivar la célula

hospedadora en un medio en condiciones adecuadas para expresar la proteína; y (iii) aislar la proteína del medio.

[0041] Otro aspecto de la presente divulgación proporciona un método de producción de una proteína que comprende un primer, segundo y tercer polipéptido, en donde el método comprende: (a) proporcionar una o más células hospedadoras, en donde la una o más células hospedadoras comprenden un vector de expresión, o una pluralidad de vectores de expresión, que comprende: (i) una primera molécula de ácido nucleico aislada que codifica el primer polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:549; (ii) una segunda molécula de ácido nucleico aislada que codifica el segundo polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:550; y (iii) una tercera molécula de ácido nucleico que codifica el tercer polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO:702, 706, 709 y 713; (b) cultivar la una o más células en un medio de cultivo en condiciones adecuadas para expresar el primer, segundo y tercer polipéptido; (c) recuperar los polipéptidos de la célula hospedadora y/o del medio de cultivo; y (d) purificar el polipéptido recuperado en condiciones que produzcan de ese modo la proteína.

[0042] Otro aspecto de la presente divulgación proporciona una composición farmacéutica que comprende una proteína como se describe en el presente documento y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[0043] Otro aspecto de la presente divulgación proporciona un método para potenciar la muerte de células tumorales, comprendiendo el método, exponer la célula tumoral y un linfocito citolítico natural a una cantidad eficaz de la proteína como se describe en el presente documento o de la composición farmacéutica como se describe en el presente documento.

[0044] Otro aspecto de la presente divulgación proporciona un método de tratamiento del cáncer, comprendiendo el método, administrar a un paciente que lo necesite, una cantidad eficaz de la proteína como se describe en el presente documento o de la composición farmacéutica como se describe en el presente documento.

[0045] Otro aspecto de la presente divulgación proporciona un uso de una proteína en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer en un sujeto humano, en donde la proteína comprende: (a) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:549; (b) un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:550; y (c) un tercer polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 702, 706, 709 y 713.

[0046] En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en: cáncer gastrointestinal, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón no microcítico y cáncer

de esófago. En algunas realizaciones, el cáncer expresa CEACAM5.

[0047] La invención también proporciona proteínas de unión que se unen a CEACAM5. Las proteínas de unión comprenden un sitio de unión a antígeno como se desvela en el presente documento. En algunos aspectos, las proteínas de unión son anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno de los mismos que tienen un sitio de unión a antígeno como se desvela en el presente documento. En otros aspectos, el sitio de unión a antígeno es un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo. La presente invención también se refiere a ácidos nucleicos que codifican las proteínas de unión, a los métodos para fabricar las proteínas de unión y al uso de las proteínas de unión en el tratamiento de enfermedades.

[0048] En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno comprende un VH que comprende una CDRH1, CDRH2 y CDRH3, y un VL que comprende una CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en donde: (i) la CDRH1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 3 y 102; (ii) la CDRH2 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 37, 104 y 718; (iii) la CDRH3 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 6, 38 y 105; (iv) la CDRL1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 7, 40 y 107; (v) la CDRL2 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 8, 41 y 108; y (vi) la CDRL3 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 9, 42 y 109.

[0049] En algunas realizaciones, la CDRH1, CDRH2 y CDRH3 son: (i) las SEQ ID NO: 3, 37 y 38, respectivamente; (ii) las SEQ ID NO: 3, 718 y 6, respectivamente; o (iii) las SEQ ID NO: 102, 104 y 105, respectivamente; y la CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del segundo sitio de unión a antígeno son: (iv) las SEQ ID NO: 7, 8 y 9, respectivamente; (v) las SEQ ID NO: 40, 41 y 42, respectivamente; o las SEQ ID NO: 107, 108 y 109, respectivamente.

[0050] En algunas realizaciones, la CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 son: (i) las SEQ ID NO: 3, 37, 38, 40, 41 y 42, respectivamente; (ii) las SEQ ID NO: 3, 718, 6, 7, 8 y 9, respectivamente; o (iii) las SEQ ID NO: 102, 104, 105, 107, 108 y 109, respectivamente.

[0051] En algunas realizaciones, el VH comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 704, 708, 711 y 715; y el VL comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 591, 705, 712 y 716.

[0052] En algunas realizaciones, el VH y el VL son: (i) las SEQ ID NO: 704 y 705, respectivamente; (ii) las SEQ ID NO: 708 y 591, respectivamente; (iii) las SEQ ID NO: 711 y

712, respectivamente; o (iv) las SEQ ID NO: 715 y 716, respectivamente.

[0053] En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno es un fragmento Fab o un scFv. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno es un scFv que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO:703, 707, 710 y 714.

[0054] En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno se une a una variante CEACAM5 humana que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:391.

[0055] En algunas realizaciones, la proteína comprende un dominio Fc de anticuerpo o una parte del mismo que se une a CD16. En algunas realizaciones, el dominio Fc de anticuerpo o una parte del mismo que se une a CD16 se liga al sitio de unión a antígeno a través de una bisagra que comprende Ala-Ser o Gly-Ser. En algunas realizaciones, la bisagra comprende además una secuencia de aminoácidos Thr-Lys-Gly.

[0056] En algunas realizaciones, el dominio VH del scFv forma un puente disulfuro con el dominio VL del scFv. En algunas realizaciones, el puente disulfuro se forma entre el C44 del VH y el C100 del VL, numerados según el esquema de numeración de Kabat.

[0057] En algunas realizaciones, el VH del scFv está ligado al VL del scFv a través de un enlazador flexible. En algunas realizaciones, el enlazador flexible comprende (G4S)₄ (SEQ ID NO:532).

[0058] En algunas realizaciones, el VH del scFv está situado en el extremo C del VL. En algunas realizaciones, el VH del scFv está situado en el extremo N del VL.

[0059] En algunas realizaciones, el dominio Fc de anticuerpo es un dominio Fc de anticuerpo de IgG1 humano. En algunas realizaciones, el dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % idéntica a la SEQ ID NO:531.

[0060] En algunas realizaciones, al menos una cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una o más mutaciones, con respecto a la SEQ ID NO:531, en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 y K439, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

[0061] En algunas realizaciones, al menos una cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una o más mutaciones, con respecto a la SEQ ID NO:531, seleccionadas del grupo que consiste en: Q347E, Q347R, Y349S, Y349K, Y349T, Y349D, Y349E, Y349C, L351K, L351D, L351Y, S354C, E356K, E357Q, E357L, E357W, K360E, K360W, Q362E, S364K, S364E, S364H, S364D, T366V, T366I, T366L, T366M, T366K, T366W, T366S, L368E, L368A, L368D, K370S, N390D, N390E, K392L, K392M, K392V, K392F, K392D, K392E, T394F, D399R, D399K, D399V, S400K, S400R, D401K,

F405A, F405T, Y407A, Y407I, Y407V, K409F, K409W, K409D, T411D, T411E, K439D y K439E, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

[0062] En algunas realizaciones, una cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una o más mutaciones, con respecto a la SEQ ID NO:531, en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 y K439; y la otra cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una o más mutaciones, con respecto a la SEQ ID NO:531, en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, D401, F405, Y407, K409, T411 y K439, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

[0063] En algunas realizaciones, una cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende las sustituciones K360E y K409W con respecto a la SEQ ID NO:531; y la otra cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende las sustituciones Q347R, D399V y F405T con respecto a la SEQ ID NO:531, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

[0064] En algunas realizaciones, una cadena polipeptídica de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende una sustitución Y349C con respecto a la SEQ ID NO:531; y la otra cadena polipeptídica de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende una sustitución S354C con respecto a la SEQ ID NO:531, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

[0065] En algunas realizaciones, la proteína comprende además un segundo sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5.

[0066] Otro aspecto de la presente divulgación proporciona una molécula de ácido nucleico aislada que codifica cualquiera de las proteínas desveladas, incluyendo, pero sin limitación, las proteínas de unión, los anticuerpos, los fragmentos de unión a antígeno o los sitios de unión a antígeno.

[0067] Otro aspecto de la presente divulgación proporciona un vector de expresión que comprende una molécula de ácido nucleico aislada que codifica cualquiera de las proteínas desveladas.

[0068] Otro aspecto de la presente divulgación proporciona una célula hospedadora que comprende un vector de expresión que comprende una molécula de ácido nucleico aislada que codifica cualquiera de las proteínas desveladas. En algunas realizaciones, la célula hospedadora es una célula de ovario de hámster chino (CHO, *chinese hamster ovary*).

[0069] Otro aspecto de la divulgación proporciona un método de producción de una proteína que comprende: (a) proporcionar una célula hospedadora que comprende un vector de expresión que comprende una molécula de ácido nucleico aislada que codifica cualquiera de las proteínas desveladas; (b) cultivar la célula hospedadora en un medio en condiciones adecuadas para expresar la proteína; y (c) aislar la proteína del medio.

[0070] Otro aspecto de la presente divulgación proporciona un método para potenciar la muerte de células tumorales, comprendiendo el método, exponer la célula tumoral y un linfocito citolítico natural a una cantidad eficaz de la proteína como se describe en el presente documento o de la composición farmacéutica como se describe en el presente documento.

[0071] Otro aspecto de la presente divulgación proporciona un método de tratamiento del cáncer, comprendiendo el método, administrar a un paciente que lo necesite, una cantidad eficaz de la proteína como se describe en el presente documento o de la composición farmacéutica como se describe en el presente documento.

[0072] Otro aspecto de la presente divulgación proporciona un uso de una proteína como se describe en el presente documento en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer en un sujeto humano, en donde la proteína comprende: (a) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:549; (b) un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:550; y (c) un tercer polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 702, 706, 709 y 713.

[0073] En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en: cáncer gastrointestinal, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón no microcítico y cáncer de esófago. En algunas realizaciones, el cáncer expresa CEACAM5.

[0074] Varios aspectos y realizaciones de la invención se describen con más detalle a continuación.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0075] La **FIG. 1** es una representación de un anticuerpo heterodimérico, multiespecífico, p. ej., una proteína de unión trispecífica (TriNKET). Cada brazo puede representar el dominio de unión a NKG2D o el dominio de unión a CEACAM5. En algunas realizaciones, el dominio de unión a NKG2D y los dominios de unión a CEACAM5 pueden compartir una cadena ligera común.

[0076] Las **FIG. 2A-2E** muestran cinco formatos ilustrativos de una proteína de unión multiespecífica, p. ej., una TriNKET. Como se muestra en la **FIG. 2A**, el dominio de unión a NKG2D o el dominio de unión a CEACAM5 pueden adoptar el formato scFv (brazo izquierdo).

Un anticuerpo que contiene un scFv dirigido a NKG2D, un fragmento Fab dirigido a CEACAM5 y un dominio Fc de anticuerpo heterodimerizado, o una parte del mismo, dirigido a CD16, se denomina en el presente documento F3-TriNKET. Un anticuerpo que contiene un scFv dirigido a CEACAM5, un fragmento Fab dirigido a NKG2D y un dominio Fc de anticuerpo heterodimerizado, o una parte del mismo, que se une a CD16, se denomina en el presente documento F3'-TriNKET (**FIG. 2E**). Como se muestra en la **FIG. 2B**, tanto el dominio de unión a NKG2D como el dominio de unión a CEACAM5 pueden adoptar el formato scFv. Las **FIG. 2C a 2D** son ilustraciones de un anticuerpo con tres sitios de unión a antígeno, incluyendo dos sitios de unión a antígeno que se unen a CEACAM5, y el sitio de unión a NKG2D fusionado con el dominio Fc del anticuerpo heterodimerizado, o una parte del mismo, que se une a CD16. En el presente documento, estos formatos de anticuerpo se denominan F4-TriNKET. La **FIG. 2C** ilustra que los dos sitios de unión a CEACAM5 están en el formato de fragmento Fab y el sitio de unión a NKG2D en formato scFv. La **FIG. 2D** ilustra que los sitios de unión a CEACAM5 están en formato scFv y el sitio de unión a NKG2D está en formato scFv. La **FIG. 2E** representa una TriNKET que contiene un scFv dirigido a tumores, un fragmento Fab dirigido a NKG2D y un dominio Fc de anticuerpo heterodimerizado, o una parte del mismo, que se une a CD16, de otro modo denominado en el presente documento una región/dominio constante ("dominio CD"). En el presente documento el formato de anticuerpo se denomina F3'-TriNKET. En determinadas proteínas de unión multiespecíficas ilustrativas, las mutaciones de heterodimerización en el dominio Fc de anticuerpo, o parte del mismo, incluyen K360E y K409W en una cadena polipeptídica del dominio Fc o parte del mismo; y Q347R, D399V y F405T en la cadena polipeptídica opuesta del dominio Fc o parte del mismo (que se muestra como una forma triangular de candado y llave en los dominios CD). La barra en negrita entre los dominios variables de cadena ligera y pesada de los fragmentos Fab representa un enlace disulfuro.

[0077] La **FIG. 3** es una representación de una TriNKET en forma de Triomab, que es un anticuerpo biespecífico, trifuncional, que conserva una forma similar a la de la IgG. Esta quimera consta de dos semianticuerpos, cada uno con una cadena ligera y otra pesada, que se originan a partir de dos anticuerpos correspondientes. La forma de triomab puede ser una construcción heterodimérica que contenga la 1/2 de anticuerpo de rata y la 1/2 de anticuerpo de ratón.

[0078] La **FIG. 4** es una representación de una TriNKET en forma de cadena ligera común KiH, que conlleva la tecnología de botón en ojal (KiH, *knobs-into-holes*). KiH es un heterodímero que contiene 2 fragmentos Fab que se unen a la diana 1 y 2, y un Fc estabilizado por mutaciones de heterodimerización. En el formato KiH, una TriNKET puede ser una construcción heterodimérica con 2 fragmentos Fab que se unen a la diana 1 y a la diana 2, que

contiene dos cadenas pesadas diferentes y una cadena ligera común que se empareja con las dos cadenas pesadas.

[0079] La **FIG. 5** es una representación de una TriNKET en forma de inmunoglobulina de doble dominio variable (DVD-Ig™, *dual-variable domain Ig*), que combina los dominios de unión a la diana de dos anticuerpos monoclonales a través de enlazadores naturales flexibles y produce una molécula similar a IgG tetravalente. DVD-Ig™ es una construcción homodimérica donde el dominio variable dirigido al antígeno 2 se fusiona con el extremo N de un dominio variable del fragmento Fab dirigido al antígeno 1. La forma DVD-Ig™ contiene Fc normal.

[0080] La **FIG. 6** es una representación de una TriNKET en forma de interfaz de fragmento Fab ortogonal (Orto-Fab), que es una construcción heterodimérica que contiene 2 fragmentos Fab que se unen a la diana 1 y a la diana 2 fusionados a Fc. El emparejamiento de cadena ligera (LC, *light chain*)-cadena pesada (HP, *heavy chain*), está garantizado por una interfaz ortogonal. La heterodimerización está garantizada por mutaciones en el Fc.

[0081] La **FIG. 7** es una representación de una TriNKET en formato Ig 2 en 1.

[0082] La **FIG. 8** es una representación de una TriNKET en forma ES, que es una construcción heterodimérica que contiene dos fragmentos Fab diferentes que se unen a la diana 1 y a la diana 2 fusionados al Fc. La heterodimerización está garantizada por mutaciones de dirección electrostática en el Fc.

[0083] La **FIG. 9** es una representación de una TriNKET en forma de intercambio del brazo Fab: anticuerpos que intercambian brazos de fragmentos Fab permutando una cadena pesada y una cadena ligera unida (media molécula) por un par de cadenas ligeras y pesadas de otra molécula, dando como resultado anticuerpos biespecíficos. La forma de intercambio del brazo Fab (cFae, *Fab Arm Exchange*) es un heterodímero que contiene 2 fragmentos Fab que se unen a la diana 1 y 2, y un Fc estabilizado por mutaciones de heterodimerización.

[0084] La **FIG. 10** es una representación de una TriNKET en forma de SEED Body, que es un heterodímero que contiene 2 fragmentos Fab que se unen a la diana 1 y 2, y un Fc estabilizado por mutaciones de heterodimerización.

[0085] La **FIG. 11** es una representación de una TriNKET en forma de LuZ-Y, en la que se utiliza una cremallera de leucina para inducir la heterodimerización de dos HC diferentes. La forma LuZ-Y es un heterodímero que contiene dos scFab diferentes que se unen a la diana 1 y 2, fusionados a Fc. La heterodimerización se garantiza a través de motivos de cremallera de leucina fusionados al extremo C de Fc.

[0086] La **FIG. 12** es una representación de una TriNKET en forma de Cov-X-Body.

[0087] Las **FIG. 13A-13B** son representaciones de las TriNKET en las formas κλ-Body, que

son construcciones heterodiméricas con dos fragmentos Fab diferentes fusionados a Fc estabilizados por mutaciones de heterodimerización: un fragmento Fab que se dirige al antígeno 1 contiene la LC kappa y el segundo fragmento Fab que se dirige al antígeno 2 contiene la LC lambda. La **FIG. 13A** es una representación ilustrativa de una forma de un $\kappa\lambda$ -Body; La **FIG. 13B** es una representación ilustrativa de otro $\kappa\lambda$ -Body.

[0088] La **FIG. 14** es una construcción heterodimérica Oasc-Fab que incluye la unión del fragmento Fab a la diana 1 y la unión del scFab a la diana 2, ambos fusionados al dominio Fc. La heterodimerización está garantizada por mutaciones en el dominio Fc.

[0089] La **FIG. 15** es un DuetMab, que es una construcción heterodimérica que contiene dos fragmentos Fab diferentes que se unen a los antígenos 1 y 2, y un Fc que está estabilizado por mutaciones de heterodimerización. Los fragmentos Fab 1 y 2 contienen puentes S-S diferenciales que garantizan el emparejamiento correcto de la cadena ligera y la cadena pesada.

[0090] La **FIG. 16** es un CrossmAb, que es una construcción heterodimérica con dos fragmentos Fab diferentes que se unen a las dianas 1 y 2, y un Fc estabilizado por mutaciones de heterodimerización. Los dominios CL y CH1, y los dominios VH y VL se permutan, p. ej., CH1 se fusiona en línea con VL, mientras que CL se fusiona en línea con VH.

[0091] La **FIG. 17** es un Fit-Ig, que es una construcción homodimérica en la que el fragmento Fab que se une al antígeno 2 se fusiona con el extremo N de la HC del fragmento Fab que se une al antígeno 1. La construcción contiene Fc natural.

[0092] La **FIG. 18** son gráficos de líneas que demuestran la afinidad de unión de los dominios de unión a NKG2D (enumerados como clones) con la NKG2D recombinante humana en un ensayo ELISA.

[0093] La **FIG. 19** son gráficos de líneas que demuestran la afinidad de unión de los dominios de unión a NKG2D (enumerados como clones) con la NKG2D recombinante de *cynomolgus* en un ensayo ELISA.

[0094] La **FIG. 20** son gráficos de líneas que demuestran la afinidad de unión de los dominios de unión a NKG2D (enumerados como clones) con la NKG2D recombinante de ratón en un ensayo ELISA.

[0095] La **FIG. 21** son gráficos de barras que demuestran la unión de los dominios de unión a NKG2D (enumerados como clones) con células EL4 que expresan NKG2D humana mediante citometría de flujo que muestra el incremento sobre el fondo (FOB, *fold over background*) de la intensidad de fluorescencia media (IFM).

[0096] La **FIG. 22** son gráficos de barras que demuestran la unión de los dominios de unión a NKG2D (enumerados como clones) con células EL4 que expresan NKG2D de ratón mediante

citometría de flujo que muestra el incremento sobre el fondo (FOB) de la intensidad de fluorescencia media (IFM).

[0097] La **FIG. 23** son gráficos de líneas que demuestran la afinidad de unión específica de los dominios de unión a NKG2D (enumerados como clones) con la NKG2D-Fc humana recombinante al competir con el ligando natural ULBP-6.

[0098] La **FIG. 24** son gráficos de líneas que demuestran la afinidad de unión específica de los dominios de unión a NKG2D (enumerados como clones) con la NKG2D-Fc humana recombinante al competir con el ligando natural MICA.

[0099] La **FIG. 25** son gráficos de líneas que demuestran la afinidad de unión específica de los dominios de unión a NKG2D (enumerados como clones) con NKG2D-Fc de ratón recombinante al competir con el ligando natural Rae-1 delta.

[0100] La **FIG. 26** son gráficos de barras que muestran la activación de la NKG2D humana por dominios de unión a NKG2D (enumerados como clones) mediante la cuantificación del porcentaje de células positivas a TNF- α , que expresan proteínas de fusión zeta NKG2D-CD3 humanas.

[0101] La **FIG. 27** son gráficos de barras que muestran la activación de la NKG2D de ratón por dominios de unión a NKG2D (enumerados como clones) mediante la cuantificación del porcentaje de células positivas a TNF- α , que expresan proteínas de fusión zeta NKG2D-CD3 de ratón.

[0102] La **FIG. 28** son gráficos de barras que muestran la activación de células NK humanas por dominios de unión a NKG2D (enumerados como clones).

[0103] La **FIG. 29** son gráficos de barras que muestran la activación de células NK humanas por dominios de unión a NKG2D (enumerados como clones).

[0104] La **FIG. 30** son gráficos de barras que muestran la activación de células NK de ratón por dominios de unión a NKG2D (enumerados como clones).

[0105] La **FIG. 31** son gráficos de barras que muestran la activación de células NK de ratón por dominios de unión a NKG2D (enumerados como clones).

[0106] La **FIG. 32** son gráficos de barras que muestran el efecto citotóxico de los dominios de unión a NKG2D (enumerados como clones) en las células tumorales.

[0107] La **FIG. 33** son gráficos de barras que muestran la temperatura de fusión de los dominios de unión a NKG2D (enumerados como clones) medida mediante fluorimetría diferencial de barrido.

[0108] Las **FIG. 34A-34C** son gráficos de barras de la activación sinérgica de las células NK utilizando unión a CD16 y a NKG2D. La **FIG. 34A** demuestra niveles de CD107a; La **FIG. 34B**

demuestra niveles de IFN- γ ; La **FIG. 34C** demuestra niveles de CD107a e IFN- γ . Los gráficos indican la media ($n = 2$) $\pm$ DE. Los datos son representativos de cinco experimentos independientes con cinco donantes sanos diferentes.

[0109] Las **FIG. 35A-35B** son sensogramas de Biacore que muestran la unión concomitante de proteínas diana CEACAM5, NKG2D y CD16 con las CEACAM5 TriNKET. La **FIG. 35B** es una ampliación de la figura **FIG. 35A**, ambos de las cuales demuestran la formación de complejos heterotetraméricos.

[0110] Las **FIG. 36A-36E** son gráficos de líneas de experimentos de citometría de flujo que demuestran la unión de las CEACAM5 TriNKET a varias proteínas que son miembros de la familia CEACAM de ser humano y *cynomolgus*. La **FIG. 36A** demuestra que AB0411 y AB0466 se unieron a CEACAM1 humana; La **FIG. 36B** demuestra que AB0411 se unió a CEACAM6 humana; La **FIG. 36C** demuestra que las CEACAM5 TriNKET no se unieron a CEACAM8 humana; La **FIG. 36D** demuestra que AB0264 y AB0621 se unieron a CEACAM5 de *cynomolgus* mientras que AB0466 y AB0411 no lo hicieron; La **FIG. 36E** demuestra que las CEACAM5 TriNKET no se unían a células que carecían de expresión de proteínas CEACAM. Los datos representan la media de pocillos duplicados y las barras de error representan la DE (desviación estándar).

[0111] Las **FIG. 37A-37D** son gráficos de líneas de un ensayo DELFIA que muestran que las CEACAM5 TriNKET promovieron la lisis de las líneas de cáncer diana SK-CO-1 (**FIG. 37A**), LS-147T (**FIG. 37B**), ZR-75-30 (**FIG. 37C**) y HPAF-II (**FIG. 37D**).

[0112] Las **FIG. 38A-38B** son gráficos de líneas de un ensayo DELFIA que muestran que AB0264 promovió la lisis de la línea de cáncer diana ZR-75-30 mejor que AB0755, su mAb (anticuerpo monoclonal) correspondiente. Las células NK activadas con IL-2 (**FIG. 38B**) mostraron una destrucción más fuerte de las células de cáncer ZR-75-30 en comparación con las células NK en reposo (**FIG. 38A**). Los puntos de datos representan la media $\pm$ DE.

[0113] Las **FIG. 39A-39E** son gráficos de líneas de un ensayo DELFIA que muestran que AB0264 promovió la lisis de las líneas de cáncer diana MKN-45 (**FIG. 39A**), SK-CO-1 (**FIG. 39B**), LS-147T (**FIG. 39C**), ZR-75-30 (**FIG. 39D**) y HPAF-II (**FIG. 39E**) mejor que su correspondiente mAb. Los puntos de datos representan la media $\pm$ DE.

[0114] Las **FIG. 40A-40E** son gráficos de líneas de un ensayo DELFIA que muestran que AB0411 promovió la lisis de las líneas de cáncer diana MKN-45 (**FIG. 40A**), SK-CO-1 (**FIG. 40B**), LS-147T (**FIG. 40C**), ZR-75-30 (**FIG. 40D**) y HPAF-II (**FIG. 40E**) mejor que su correspondiente mAb. Los puntos de datos representan la media $\pm$ DE.

[0115] La **FIG. 41** es un gráfico de líneas de un ensayo DELFIA que muestra que la

destrucción de células diana mediada por NK depende de la unión de las TriNKET a CD16, NKG2D y CEACAM5. Los puntos de datos representan la media $\pm$ DE.

[0116] Las **FIG. 42A-42D** son gráficos de líneas de ensayos de activación de IFN γ y CD107a. La **FIG. 42A** demuestra la inducción de la secreción de IFN γ por parte de las células NK primarias después de la interacción conjunta con las CEACAM5 TriNKET y células diana SK-CO-1; La **FIG. 42B** demuestra la inducción de la producción de IFN γ y la desgranulación de CD107a por parte de las células NK primarias después de la interacción conjunta con las CEACAM5 TriNKET y células diana MKN-45; Las TriNKET mejoraron la desgranulación de células NK CD8⁺ en PBMC (células mononucleares de sangre periférica) de *cynomolgus* después de la interacción conjunta con las CEACAM5 TriNKET y células diana MKN-45 (**FIG. 42C**) o SK-CO-1 (**FIG. 42D**). Los datos son representativos de los resultados de experimentos con PBMC de tres animales. Los datos representan la media $\pm$ DE.

[0117] La **FIG. 43A** es un gráfico de experimentos de citometría de flujo que demuestran la expresión de la proteína CEACAM5 en la línea celular de cáncer SK-CO-1 y en las líneas 10910 y 3222 de organoides tumorales de cáncer de pulmón no microcítico procedentes de pacientes. Los ensayos DELFIA demostraron que las CEACAM5 TriNKET promovieron la lisis de la líneas 3222 (**FIG. 43B**) y 10910 (**FIG. 43C**) de organoides tumorales de cáncer de pulmón no microcítico procedentes de pacientes.

[0118] La **FIG. 44A** es un diagrama esquemático que describe un método para generar linfocitos T CD8⁺ activados. La **FIG. 44B** es un gráfico de líneas de un ensayo DELFIA que muestra que el aumento de la lisis de células diana mediada por linfocitos T CD8⁺ preactivados, depende de la unión de las TriNKET a NKG2D y CEACAM5. Los valores de lisis máxima representan la media de tres donantes $\pm$ DE.

[0119] La **FIG. 45** son curvas de Kaplan-Meier que demuestran el porcentaje de ratones transgénicos hCEACAM5 con tumores subcutáneos B16F10-hCEACAM5 que permanecen a lo largo del tiempo en cada grupo de tratamiento con IgG2a de ratón sustituto de AB0621 (mAB0621).

[0120] Las **FIG. 46A-46E** son curvas individuales de volúmenes tumorales de ratones portadores de tumor B16F10-hCEACAM5 en un modelo transgénico hCEACAM5 después de la administración del control de isotipo a 15 mg/kg (**FIG. 46A**) o mAB0621 a 15 mg/kg (**FIG. 46B**), 5 mg/kg (**FIG. 46C**), 1,5 mg/kg (**FIG. 46D**) o 0,5 mg/kg (**FIG. 46E**) hasta el día 26.

[0121] La **FIG. 47** son curvas de Kaplan-Meier que demuestran el porcentaje de animales que permanecen a lo largo del tiempo en cada grupo tratado de forma individual o doble con mAB0621 y/o un anticuerpo anti-PD1.

[0122] Las **FIG. 48A-48D** son los volúmenes tumorales B16F10-hCEACAM5 individuales medidos para cada animal en el grupo de tratamiento de control de isotipo (**FIG. 48A**), el grupo de tratamiento anti-PD1 (**FIG. 48B**), el grupo de tratamiento mAB0621 (**FIG. 48C**) o el grupo de tratamiento mAB0621 + anti-PD-1 (**FIG. 48D**).

[0123] Las **FIG. 49A-49B** son gráficos de líneas que muestran la concentración sérica promedio a lo largo del tiempo para AB0264 libre y total (**FIG. 49A**) y AB0411 (**FIG. 49B**) en macaco *cynomolgus*.

[0124] Las **FIG. 50A-50C** son gráficos de líneas que muestran la concentración sérica promedio a lo largo del tiempo para AB0621 libre y total (**FIG. 50A**), AB0411 (**FIG. 50B**) y AB0466 (**FIG. 50C**) en ratones transgénicos B6.Cg-Tg(hCEACAM5)2682Wzm/Ieg.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

[0125] La invención proporciona proteínas de unión multiespecíficas que se unen al receptor NKG2D y CD16 en linfocitos citolíticos naturales y al antígeno asociado a tumor CEACAM5. En algunas realizaciones, las proteínas multiespecíficas incluyen además un sitio de unión a antígeno adicional que se une a CEACAM5. La invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden dichas proteínas de unión multiespecíficas y métodos terapéuticos que utilizan dichas proteínas multiespecíficas y composiciones farmacéuticas, para fines tales como el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias y cáncer. Varios aspectos de la invención se exponen a continuación en apartados; sin embargo, los aspectos de la invención descritos en un apartado en particular no deben limitarse a ningún apartado en particular.

[0126] Para facilitar la comprensión de la presente invención, a continuación se define una serie de términos y expresiones.

[0127] Los términos "un" y "uno/a", como se usan en el presente documento, significan "uno/a o más" e incluyen el plural a menos que el contexto indique lo contrario.

[0128] El término "pluralidad", como se usa en el presente documento, significa más de uno/a.

[0129] Como se usa en el presente documento, la expresión "sitio de unión a antígeno" se refiere a la parte de la molécula de inmunoglobulina que participa en la unión con el antígeno. En los anticuerpos humanos, el sitio de unión a antígeno está formado por restos de aminoácidos de las regiones variables ("V") del extremo N de las cadenas pesada ("H", *heavy*) y ligera ("L", *light*). Tres tramos muy divergentes dentro de las regiones V de las cadenas pesada y ligera se denominan "regiones hipervariables" que se interponen entre tramos flanqueantes más conservados conocidos como "regiones marco", o "FR" (*framework regions*). Por tanto, el término "FR" se refiere a secuencias de aminoácidos que se encuentran en las inmunoglobulinas

de manera natural entre las regiones hipervariables, o que son adyacentes a ellas. En una molécula de anticuerpo humano, las tres regiones hipervariables de una cadena ligera y las tres regiones hipervariables de una cadena pesada se disponen una con respecto a la otra en un espacio tridimensional para formar una superficie de unión a antígeno. La superficie de unión a antígeno es complementaria a la superficie tridimensional de un antígeno unido, y las tres regiones hipervariables de cada una de las cadenas pesada y ligera se denomina "regiones determinantes de la complementariedad", o "CDR", *complementarity-determining regions*). En algunos animales, como camellos y peces cartilaginosos, el sitio de unión a antígeno está formado por una sola cadena de anticuerpo que proporciona un "anticuerpo de un solo dominio". Puede haber sitios de unión a antígeno en un anticuerpo intacto, en un fragmento de unión a antígeno de un anticuerpo que conserva la superficie de unión a antígeno, o en un polipéptido recombinante tal como un scFv, utilizando un enlazador peptídico para conectar el dominio variable de cadena pesada con el dominio variable de cadena ligera en un solo polipéptido.

[0130] La expresión "dominio Fc" o "región Fc", como se usa en el presente documento, se refiere a una región del extremo C de una cadena pesada de inmunoglobulina procedente del segundo y tercer dominio constante. La expresión incluye regiones Fc de secuencia natural y regiones Fc variantes. En algunas realizaciones, la región Fc variante comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 90 % idéntica (es decir, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 %), a una región Fc de secuencia natural humana, p. ej., una región Fc de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humana. Aunque los límites de la región Fc de una cadena pesada de IgG pueden variar ligeramente, se ha definido que la región Fc de la cadena pesada de IgG humana se extiende desde Cys226, o desde Pro230, hasta el extremo carboxilo de la cadena pesada. Sin embargo, la lisina del extremo C (Lys447) de la región Fc puede estar presente o no. A menos que se especifique lo contrario en el presente documento, la numeración de los restos de aminoácidos en la región Fc o en la región constante es según el sistema de numeración de la UE, también denominado índice de la UE, como se describe en Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991. El dominio Fc como se usa en el presente documento comprende dos cadenas polipeptídicas que juntas forman el dominio Fc dimérico, es decir, que cada polipéptido comprende una región constante en el extremo C de una cadena pesada de inmunoglobulina y capaz de autoasociarse. En realizaciones específicas, una subunidad de un dominio Fc de IgG comprende un dominio constante CH2 de IgG y CH3 de IgG.

[0131] La expresión "antígeno asociado a tumor", como se usa en el presente documento,

significa cualquier antígeno incluyendo, pero sin limitación, una proteína, una glucoproteína, un gangliósido, un hidrato de carbono o un lípido que esté asociado al cáncer. Dicho antígeno puede expresarse en células malignas o en el microambiente tumoral, tal como en vasos sanguíneos asociados a tumores, en la matriz extracelular, en el estroma mesenquimatoso o en infiltrados inmunitarios.

[0132] Como se usa en el presente documento, los términos "sujeto" y "paciente" se refieren a un organismo a tratar mediante los métodos y las composiciones que se describen en el presente documento. Dichos organismos incluyen, preferentemente, pero sin limitación, mamíferos (p. ej., murinos, simios, equinos, bovinos, porcinos, cánidos, felinos y similares), y más preferentemente incluyen seres humanos.

[0133] Como se usa en el presente documento, la expresión "cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a la cantidad de un compuesto (p. ej., una proteína, una proteína de unión, un anticuerpo, o un fragmento de unión a antígeno de la presente invención) que es suficiente para obtener resultados beneficiosos o deseados. Una cantidad eficaz puede administrarse en una o más administraciones, aplicaciones o dosis y no pretende limitarse a una formulación o vía de administración particular. Como se usa en el presente documento, el término "tratar" incluye cualquier efecto, p. ej., atenuación, reducción, modulación, mejora o eliminación, que dé lugar a la mejora de la afección, enfermedad, trastorno y similar, o a la mejora de un síntoma del mismo.

[0134] Como se usa en el presente documento, la expresión "composición farmacéutica" se refiere a la combinación de un agente activo con un vehículo, inerte o activo, farmacéuticamente aceptable, haciendo que la composición sea especialmente adecuada para uso diagnóstico o terapéutico *in vivo* o *ex vivo*.

[0135] Como se usa en el presente documento, la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquiera de los vehículos farmacéuticos convencionales, tales como solución salina tamponada con fosfato, agua, emulsiones (p. ej., tal como una emulsión de aceite en agua o de agua en aceite) y diversos tipos de agentes humectantes. Las composiciones también pueden incluir estabilizadores y conservantes. Como ejemplos de vehículos, estabilizadores y adyuvantes, véase, p. ej., Martin, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15ª Ed., Mack Publ. Co., Easton, PA [1975].

[0136] Como se usa en el presente documento, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquier sal farmacéuticamente aceptable (p. ej., ácido o base) de un compuesto de la presente invención que, tras la administración a un sujeto, es capaz de proporcionar un compuesto de esta invención o un metabolito activo o un residuo del mismo. Como saben los expertos en la materia, las "sales" de los compuestos de la presente invención

pueden proceder de bases y ácidos inorgánicos u orgánicos. Como ejemplos de ácidos se incluyen, pero sin limitación, ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico, perclórico, fumárico, maleico, fosfórico, glicólico, láctico, salicílico, succínico, tolueno-p-sulfónico, tartárico, acético, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, fórmico, benzoico, malónico, naftaleno-2-sulfónico, bencenosulfónico y similares. Otros ácidos, como el oxálico, aunque no en sí mismos farmacéuticamente aceptables, pueden emplearse en la preparación de sales útiles como intermedios en la obtención de los compuestos de la invención y sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables.

[0137] Como ejemplos de bases se incluyen, pero sin limitación, hidróxidos de metales alcalinos (p. ej., sodio), hidróxidos de metales alcalinotérreos (p. ej., magnesio), amoníaco y compuestos de fórmula NW_4^+ , en donde W es alquilo C_{1-4} , y similares.

[0138] Como ejemplos de sales se incluyen, pero sin limitación: acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, alcanforato, alcanforsulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, flucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, oxalato, palmoato, pectinato, persulfato, fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, tosilato, undecanoato y similares. Otros ejemplos de sales incluyen aniones de los compuestos de la presente invención compuestos con un catión adecuado tal como Na^+ , NH_4^+ y NW_4^+ (en donde W es un grupo alquilo C_{1-4}), y similares.

[0139] Para un uso terapéutico, las sales de los compuestos de la presente invención se consideran farmacéuticamente aceptables. Sin embargo, también pueden utilizarse sales de ácidos y bases que no sean farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, en la preparación o purificación de un compuesto farmacéuticamente aceptable.

[0140] Como se usa en el presente documento, "CEACAM5" (también conocida como molécula de adhesión celular relacionada con el antígeno carcinoembrionario 5, antígeno del meconio 100, CEA, antígeno carcinoembrionario, CD66e o antígeno CD66e) se refiere a la proteína de Uniprot con el número de registro P06731 e isoformas relacionadas.

[0141] A lo largo de la descripción, cuando se describe que las composiciones tienen, incluyen o comprenden componentes específicos, o cuando se describe que los procesos y métodos tienen, incluyen o comprenden etapas específicas, se contempla que, adicionalmente, hay composiciones de la presente invención que consisten esencialmente en, o consisten en, los componentes enumerados, y que hay procesos y métodos según la presente invención que consisten esencialmente en, o consisten en, las etapas de procesamiento mencionadas.

[0142] En general, las composiciones que especifican un porcentaje son en peso, a menos que se especifique lo contrario. Además, si una variable no va acompañada de una definición, prevalecerá la definición anterior de la variable.

I. PROTEÍNAS

[0143] La invención proporciona proteínas de unión multiespecíficas que se unen al receptor NKG2D y a CD16 en linfocitos citolíticos naturales, y al antígeno asociado a tumor CEACAM5. Las proteínas de unión multiespecíficas son útiles en las composiciones farmacéuticas y en los métodos terapéuticos que se describen en el presente documento. La unión de las proteínas de unión multiespecíficas al receptor NKG2D y CD16 en un linfocito citolítico natural mejora la actividad del linfocito citolítico natural hacia la destrucción de las células tumorales que expresan CEACAM5. La unión de las proteínas de unión multiespecíficas a las células tumorales que expresan CEACAM5 hace que estas células se acerquen al linfocito citolítico natural, lo que facilita la destrucción directa e indirecta de las células tumorales por parte del linfocito citolítico natural. En las publicaciones de solicitud internacional N.º WO2018148445 y WO2019157366, que no se incorporan en el presente documento por referencia, se desvelan proteínas de unión multiespecíficas que se unen a NKG2D, CD16, y a otra diana. A continuación se proporciona una descripción adicional de algunas proteínas de unión multiespecíficas ilustrativas.

[0144] El primer componente de la proteína de unión multiespecífica es un sitio de unión a antígeno que se une a células que expresan el receptor NKG2D, que pueden incluir, entre otros, células NK, linfocitos T $\gamma\delta$, y linfocitos T $\alpha\beta$ CD8⁺. Después de unirse a NKG2D, las proteínas de unión multiespecíficas pueden bloquear la unión de ligandos naturales, tales como ULBP6 y MICA, con NKG2D y activar a las células NK.

[0145] El segundo componente de las proteínas de unión multiespecíficas es un sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5. Pueden encontrarse células que expresan CEACAM5, por ejemplo, en cáncer gastrointestinal, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón no microcítico y cáncer de esófago.

[0146] El tercer componente de las proteínas de unión multiespecíficas es un dominio Fc de anticuerpo o una parte del mismo o un sitio de unión a antígeno, cada uno de los cuales se une a células que expresan CD16, incluyendo, como ejemplos particulares, un receptor de Fc en la superficie de los leucocitos, incluyendo linfocitos citolíticos naturales, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, mastocitos y células dendríticas foliculares.

[0147] Un sitio de unión a antígeno adicional de las proteínas de unión multiespecíficas puede unirse a CEACAM5. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno

que se une a NKG2D es un scFv, y cada uno del segundo sitio de unión a antígeno y de los sitios de unión a antígeno adicionales que se unen a CEACAM5, es un fragmento Fab. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D es un scFv, y cada uno del segundo sitio de unión a antígeno y de los sitios de unión a antígeno adicionales que se unen a CEACAM5, es un scFv. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D es un fragmento Fab, y cada uno del segundo sitio de unión a antígeno y de los sitios de unión a antígeno adicionales que se unen a CEACAM5, es un scFv. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D es un Fab, y cada uno del segundo sitio de unión a antígeno y de los sitios de unión a antígeno adicionales que se unen a CEACAM5, es un fragmento Fab.

[0148] Cada uno de los sitios de unión a antígeno puede incorporar un dominio variable de cadena pesada de anticuerpo y un dominio variable de cadena ligera de anticuerpo (p. ej., dispuestos como en un anticuerpo, o fusionados entre sí para formar un scFv), o uno o más de los sitios de unión a antígeno pueden ser un anticuerpo de un solo dominio, tal como un anticuerpo V_HH similar a un anticuerpo de camélido o un anticuerpo V_{NAR} similar a los que se encuentran en los peces cartilagosos.

[0149] Las proteínas de unión multiespecíficas descritas en el presente documento pueden adoptar varios formatos. Por ejemplo, un formato es un anticuerpo heterodimérico, multiespecífico que incluye una primera cadena pesada de inmunoglobulina, una primera cadena ligera de inmunoglobulina, una segunda cadena pesada de inmunoglobulina y una segunda cadena ligera de inmunoglobulina (**FIG. 1**). La primera cadena pesada de inmunoglobulina incluye un primer dominio Fc (bisagra-CH2-CH3), un primer dominio variable de cadena pesada y opcionalmente un primer dominio de cadena pesada CH1. La primera cadena ligera de inmunoglobulina incluye un primer dominio variable de cadena ligera y, opcionalmente, un primer dominio Fc de anticuerpo de cadena ligera. La primera cadena ligera de inmunoglobulina, junto con la primera cadena pesada de inmunoglobulina, forma un sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D. La segunda cadena pesada de inmunoglobulina comprende un segundo dominio Fc (bisagra-CH2-CH3), un segundo dominio variable de cadena pesada y opcionalmente un segundo dominio de cadena pesada CH1. La segunda cadena ligera de inmunoglobulina incluye un segundo dominio variable de cadena ligera y opcionalmente un segundo dominio constante de cadena ligera. La segunda cadena ligera de inmunoglobulina, junto con la segunda cadena pesada de inmunoglobulina, forma un sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5. El primer dominio Fc y el segundo dominio Fc juntos pueden unirse a CD16 (**FIG. 1**).

[0150] Otro formato ilustrativo implica un anticuerpo heterodimérico, multiespecífico que

incluye una primera cadena pesada de inmunoglobulina, una segunda cadena pesada de inmunoglobulina y una cadena ligera de inmunoglobulina (**FIG. 2A**). La primera cadena pesada de inmunoglobulina incluye un primer dominio Fc (bisagra-CH2-CH3) fusionado a través de un enlazador o una bisagra de anticuerpo a un scFv compuesto por un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera que se emparejan y se unen a NKG2D, o se unen a CEACAM5. La segunda cadena pesada de inmunoglobulina incluye un segundo dominio Fc (bisagra-CH2-CH3), un segundo dominio variable de cadena pesada y un dominio de cadena pesada CH1. La cadena ligera de inmunoglobulina incluye un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera. La segunda cadena pesada de inmunoglobulina se empareja con la cadena ligera de inmunoglobulina y se une a NKG2D o se une a CEACAM5. El primer dominio Fc y el segundo dominio Fc juntos pueden unirse a CD16 (**FIG. 2A**).

[0151] Otro formato ilustrativo implica un anticuerpo heterodimérico, multiespecífico que incluye una primera cadena pesada de inmunoglobulina y una segunda cadena pesada de inmunoglobulina (**FIG. 2B**). La primera cadena pesada de inmunoglobulina incluye un primer dominio Fc (bisagra-CH2-CH3) fusionado a través de un enlazador o una bisagra de anticuerpo a un scFv compuesto por un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera que se emparejan y se unen a NKG2D, o se unen a CEACAM5. La segunda cadena pesada de inmunoglobulina incluye un segundo dominio Fc (bisagra-CH2-CH3) fusionado a través de un enlazador o una bisagra de anticuerpo a un scFv compuesto por un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera que se emparejan y se unen a NKG2D, o se unen a CEACAM5. El primer dominio Fc y el segundo dominio Fc juntos pueden unirse a CD16 (**FIG. 2B**).

[0152] En algunas realizaciones, el scFv descrito anteriormente está ligado al dominio constante del anticuerpo a través de una secuencia bisagra. En algunas realizaciones, la bisagra comprende los aminoácidos Ala-Ser o Gly-Ser. En algunas realizaciones, la bisagra conecta un scFv que se une a NKG2D y el dominio constante de cadena pesada del anticuerpo comprende los aminoácidos Ala-Ser. En algunas realizaciones, la bisagra conecta un scFv que se une a CEACAM5 y el dominio constante de cadena pesada del anticuerpo comprende los aminoácidos Gly-Ser. En algunas realizaciones diferentes, la bisagra comprende los aminoácidos Ala-Ser y Thr-Lys-Gly. La secuencia bisagra puede proporcionar flexibilidad de unión al antígeno diana y equilibrio entre flexibilidad y geometría óptima.

[0153] En algunas realizaciones, el scFv descrito anteriormente incluye un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera. En algunas realizaciones, el dominio variable de cadena pesada forma un puente disulfuro con el dominio variable de cadena ligera

para mejorar la estabilidad del scFv. Por ejemplo, se puede formar un puente disulfuro entre el resto C44 del dominio variable de cadena pesada y el resto C100 del dominio variable de cadena ligera, las posiciones de aminoácidos se numeran según Kabat. En algunas realizaciones, el dominio variable de cadena pesada está ligado al dominio variable de cadena ligera a través de un enlazador flexible. Puede utilizarse cualquier enlazador adecuado, por ejemplo, el enlazador (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532). En algunas realizaciones del scFv, el dominio variable de cadena pesada está situado en el extremo N del dominio variable de cadena ligera. En algunas realizaciones del scFv, el dominio variable de cadena pesada está situado en el extremo C del dominio variable de cadena ligera.

[0154] Las proteínas de unión multiespecífica descritas en el presente documento pueden incluir además uno o más sitios de unión a antígeno adicionales. El/los sitio(s) de unión a antígeno adicional(es) puede(n) fusionarse con el extremo N del dominio CH₂ de la región constante o con el extremo C del dominio CH₃ de la región constante, opcionalmente a través de una secuencia enlazadora. En determinadas realizaciones, el/los sitio(s) de unión a antígeno adicional(es) adopta(n) la forma de una región variable monocatenaria (scFv) que está opcionalmente estabilizada con disulfuro, dando como resultado una proteína de unión multiespecífica tetravalente o trivalente. Por ejemplo, una proteína de unión multiespecífica incluye un primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D, un segundo sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5, un sitio de unión a antígeno adicional que se une a CEACAM5, y una región constante de anticuerpo o una parte de la misma suficiente para unirse a CD16 o un cuarto sitio de unión a antígeno que se une a CD16. Uno cualquiera de estos sitios de unión a antígeno puede adoptar la forma de un fragmento Fab o un scFv, tal como un scFv descrito anteriormente.

[0155] En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno adicional se une a un epítipo diferente de CEACAM5 del segundo sitio de unión a antígeno. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno adicional se une al mismo epítipo que el segundo sitio de unión a antígeno. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno adicional comprende las mismas secuencias CDR de cadena pesada y de cadena ligera que el segundo sitio de unión a antígeno. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno adicional comprende las mismas secuencias de dominio variable de cadena pesada y de cadena ligera que el segundo sitio de unión a antígeno. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno adicional tiene la(s) misma(s) secuencia(s) de aminoácidos que el segundo sitio de unión a antígeno. En las **FIG. 2C** y **FIG. 2D** se muestran formatos ilustrativos. Por consiguiente, las proteínas de unión multiespecíficas pueden proporcionar un acoplamiento bivalente de CEACAM5. El acoplamiento bivalente de

CEACAM5 por las proteínas multiespecíficas puede estabilizar la CEACAM5 en la superficie de la célula tumoral y mejorar la citotoxicidad de las células NK hacia las células tumorales. El acoplamiento bivalente de CEACAM5 por las proteínas multiespecíficas puede conferir una unión más fuerte de las proteínas multiespecíficas con las células tumorales, facilitando así una respuesta citotóxica más fuerte de las células NK hacia las células tumorales, especialmente hacia las células tumorales que expresan un bajo nivel de CEACAM5.

[0156] Las proteínas de unión multiespecíficas pueden adoptar formatos adicionales. En algunas realizaciones, la proteína de unión multiespecífica está en forma de Triomab, que es un anticuerpo biespecífico, trifuncional, que conserva una forma similar a la de la IgG. Esta quimera consta de dos semianticuerpos, cada uno con una cadena ligera y otra pesada, que se originan a partir de dos anticuerpos correspondientes.

[0157] En algunas realizaciones, la proteína de unión multiespecífica es la forma KiH, que conlleva la tecnología de botón en ojal (KiH). La forma KiH implica el diseño de dominios C_{H3} para crear un "botón" o un "ojal" en cada cadena pesada para promover la heterodimerización. El concepto detrás de la tecnología de Fc de "botón en ojal (KiH)" era introducir un "botón" en un dominio $CH3$ ($CH3A$) sustituyendo un resto pequeño por uno voluminoso (p. ej., T366W $_{CH3A}$ en la numeración de la UE). Para dar cabida al "botón", se creó una superficie en "ojal" complementaria en el otro dominio $CH3$ ($CH3B$) reemplazando los restos vecinos más cercanos al botón con otros más pequeños (p. ej., T366S/L368A/Y407V $_{CH3B}$). La mutación "ojal" se optimizó mediante una exploración de fagotecas guiada por estructuras (Atwell S, Ridgway JB, Wells JA, Carter P., Stable heterodimers from remodeling the domain interface of a homodimer using a phage display library, *J. Mol. Biol.* (1997) 270(1):26–35). X-ray crystal structures of KiH Fc variants (Elliott JM, Ultsch M, Lee J, Tong R, Takeda K, Spiess C, *et al.*, Antiparallel conformation of knob and hole aglycosylated half-antibody homodimers is mediated by a $CH2$ - $CH3$ hydrophobic interaction. *J. Mol. Biol.* (2014) 426(9):1947–57; Mimoto F, Kadono S, Katada H, Igawa T, Kamikawa T, Hattori K. Crystal structure of a novel asymmetrically engineered Fc variant with improved affinity for $Fc\gamma Rs$. *Mol. Immunol.* (2014) 58(1):132–8) demostraron que la heterodimerización se ve favorecida termodinámicamente por interacciones hidrófobas impulsadas por la complementariedad estérica en la interfaz central del dominio entre $CH3$, mientras que las interfaces botón-botón y ojal-ojal no favorecen la homodimerización debido al impedimento estérico y a la interrupción de las interacciones favorables, respectivamente.

[0158] En algunas realizaciones, la proteína de unión multiespecífica está en forma de inmunoglobulina de dominio variable doble (DVD-IgTM), que combina los dominios de unión a

diana de dos anticuerpos monoclonales a través de enlazadores naturales flexibles y produce una molécula similar a IgG tetravalente.

[0159] En algunas realizaciones, la proteína de unión multiespecífica está en forma de interfaz de Fab ortogonal (Orto-Fab). En la estrategia de IgG orto-Fab (Lewis SM, Wu X, Pustilnik A, Sereno A, Huang F, Rick HL, *et al.*, Generation of bispecific IgG antibodies by structure-based design of an orthogonal Fab interface. *Nat. Biotechnol.* (2014) 32(2):191–8), el diseño regional basado en la estructura introduce mutaciones complementarias en la interfaz LC y HC_{VH-CH1} en un solo fragmento Fab, sin que se realice ningún cambio en el otro fragmento Fab.

[0160] En algunas realizaciones, la proteína de unión multiespecífica está en formato Ig 2 en 1. En algunas realizaciones, la proteína de unión multiespecífica está en forma ES, que es una construcción heterodimérica que contiene dos fragmentos Fab diferentes que se unen a las dianas 1 y a la diana 2 fusionadas con el Fc. La heterodimerización está garantizada por mutaciones de dirección electrostática en el Fc.

[0161] En algunas realizaciones, la proteína de unión multiespecífica está en forma de $\kappa\lambda$ -Body, que es una construcción heterodimérica con dos fragmentos Fab diferentes fusionados con Fc estabilizados por mutaciones de heterodimerización: El fragmento Fab 1 dirigido al antígeno 1 contiene LC kappa, mientras que el fragmento Fab 2 dirigido al antígeno 2 contiene LC lambda. La **FIG. 13A** es una representación ilustrativa de una forma de un $\kappa\lambda$ -Body; La **FIG. 13B** es una representación ilustrativa de otro $\kappa\lambda$ -Body.

[0162] En algunas realizaciones, la proteína de unión multiespecífica está en forma de intercambio de brazos Fab (anticuerpos que intercambian brazos de fragmentos Fab permutando una cadena pesada y una cadena ligera unida (media molécula) por un par de cadena pesada-ligera de otra molécula, lo que da lugar a anticuerpos biespecíficos).

[0163] En algunas realizaciones, la proteína de unión multiespecífica está en forma de SEED Body. La plataforma de dominio genomodificado por intercambio de cadenas (SEED, *strand-exchange engineered domain*) se diseñó para generar moléculas asimétricas y biespecíficas similares a anticuerpos, una capacidad que amplía las aplicaciones terapéuticas de los anticuerpos naturales. Esta plataforma de ingeniería de proteínas se basa en el intercambio de secuencias de inmunoglobulina estructuralmente relacionadas dentro de los dominios CH3 conservados. El diseño SEED permite la generación eficaz de heterodímeros AG/GA, mientras que desfavorece la homodimerización de los dominios AG y GA SEED CH3. (Muda M. *et al.*, *Protein Eng. Des. Sel.* (2011, 24(5):447-54)).

[0164] En algunas realizaciones, la proteína de unión multiespecífica está en forma LuZ-Y, en la que se utiliza una cremallera de leucina para inducir la heterodimerización de dos HC

diferentes. (Wranik, BJ. *et al.*, *J. Biol. Chem.* (2012), 287:43331-9).

[0165] En algunas realizaciones, la proteína de unión multiespecífica está en forma Cov-X-Body. En los CovX-Bodies biespecíficos, dos péptidos diferentes se unen mediante un enlazador de azetidinona ramificado y se fusionan con el anticuerpo armazón en condiciones suaves de una manera específica del sitio. Mientras que los farmacóforos son responsables de las actividades funcionales, el armazón del anticuerpo le confiere una larga semivida y una distribución similar a la de las Ig. Los farmacóforos pueden optimizarse químicamente o reemplazarse por otros farmacóforos para generar anticuerpos biespecíficos optimizados o únicos. (Doppalapudi VR *et al.*, *PNAS* (2010), 107(52);22611-22616).

[0166] En algunas realizaciones, la proteína de unión multiespecífica está en forma heterodimérica Oasc-Fab que incluye la unión del fragmento Fab a la diana 1 y la unión de scFab a la diana 2 fusionada con Fc. La heterodimerización está garantizada por mutaciones en el Fc.

[0167] En algunas realizaciones, la proteína de unión multiespecífica está en forma de DuetMab, que es una construcción heterodimérica que contiene dos fragmentos Fab diferentes que se unen a los antígenos 1 y 2, y Fc se estabiliza mediante mutaciones de heterodimerización. Los fragmentos Fab 1 y 2 contienen puentes S-S diferenciales que garantizan el emparejamiento correcto de LC y HC.

[0168] En algunas realizaciones, la proteína de unión multiespecífica está en forma CrossmAb, que es una construcción heterodimérica con dos fragmentos Fab diferentes que se unen a las dianas 1 y 2, fusionada a Fc que se estabiliza mediante heterodimerización. Los dominios CL y CH1 y los dominios VH y VL se permutan, p. ej., CH1 se fusiona dentro del marco de lectura con VL, mientras que CL se fusiona dentro del marco de lectura con VH.

[0169] En algunas realizaciones, la proteína de unión multiespecífica está en forma Fit-Ig, que es una construcción homodimérica donde el fragmento Fab que se une al antígeno 2 se fusiona con el extremo N del HC del fragmento Fab que se une al antígeno 1. La construcción contiene Fc natural.

[0170] Los componentes individuales de las proteínas de unión multiespecíficas se describen con más detalle a continuación.

Sitio de unión a NKG2D

[0171] Al unirse al receptor NKG2D y CD16 en linfocitos citolíticos naturales, y a un antígeno asociado a tumor en células cancerosas, las proteínas de unión multiespecíficas pueden acoplarse a más de un tipo de receptor activador de NK y pueden bloquear la unión de ligandos naturales con NKG2D. En determinadas realizaciones, las proteínas pueden actuar como

agonistas de células NK de seres humanos. En algunas realizaciones, las proteínas pueden actuar como agonistas de células NK de seres humanos y de otras especies como roedores y macacos *cynomolgus*. En algunas realizaciones, las proteínas pueden actuar como agonistas de las células NK de seres humanos y de otras especies como macacos *cynomolgus*.

[0172] La Tabla 1 enumera secuencias peptídicas de dominios variables de cadena pesada y dominios variables de cadena ligera que, en combinación, pueden unirse a NKG2D. En algunas realizaciones, el dominio variable de cadena pesada y el dominio variable de cadena ligera se disponen en formato Fab. En algunas realizaciones, el dominio variable de cadena pesada y el dominio variable de cadena ligera se fusionan para formar un scFv.

[0173] Los sitios de unión de NKG2D enumerados en la Tabla 1 pueden variar en cuanto a afinidad de unión a NKG2D, no obstante, todos ellos activan a las células NK humanas.

[0174] Salvo que se indique lo contrario, las secuencias de CDR proporcionadas en la Tabla 1 se determinan según la numeración de Kabat.

Tabla 1		
Clones	Secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada	Secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera
ADI-27705	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTLLVTV SS (SEQ ID NO:392) CDR1 (SEQ ID NO:394) – GSFSGYYWS CDR2 (SEQ ID NO:395) – EIDHSGSTNYPNPSLKS CDR3 (SEQ ID NO:396) – ARARGPWSFDP	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDFFATY YCQQYNSTPITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:393)
ADI-27724	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS	EIVLTQSPGTLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPG QAPRLIYGASSRATGIPDRFS

	VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGLTVTV SS (SEQ ID NO:397)	SGSGTGDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQYGSSPITFGGGTKVEI K (SEQ ID NO:398)
ADI-27740 (A40)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGLTVTV SS (SEQ ID NO:399)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSIGSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDDEFATY YCQQYHSFYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:400)
ADI-27741	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGLTVTV SS (SEQ ID NO:401)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSIGSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDDEFATY YCQQSNSYYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:402)
ADI-27743	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGLTVTV SS (SEQ ID NO:403)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDDEFATY YCQQYNSYPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:404)
ADI-28153	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWGFDPWGQGLTVTV SS (SEQ ID NO:405)	ELQMTQSPSSLSASVGDRVITIT CRTSQSISSYLNWYQQKPGQP PKLLIYWASTRESGVPDRFSGS GSGTDFTLTISLQPEDSATYY CQQSYDIPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:406)
ADI-28226	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT

(C26)	VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:407)	CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDEFATY YCQQYGSFPITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:408)
ADI-28154	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:409)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPDDEFATY YCQQSKEVPWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:410)
ADI-29399	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:411)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDEFATY YCQQYNSFPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:412)
ADI-29401	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:413)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVIT CRASQSIGSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDEFATY YCQQYDIYPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:414)
ADI-29403	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTLLTV SS	DIQMTQSPSTLSASVGDRVIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDEFATY YCQQYDSYPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:416)

	(SEQ ID NO:415)	
ADI-29405	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:417)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYGSFPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:418)
ADI-29407	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:419)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYQSFPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:420)
ADI-29419	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:421)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYSSFSTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:422)
ADI-29421	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:423)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQQYESYSTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:424)
ADI-29424	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY	DIQMTQSPSTLSASVGDRVIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY

	YCARARGPWSFDPWGQGTTLVTV SS (SEQ ID NO:425)	YCQQYDSFITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:426)
ADI-29425	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTTLVTV SS (SEQ ID NO:427)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDDEFATY YCQQYQSYPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:428)
ADI-29426	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTTLVTV SS (SEQ ID NO:429)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSISGLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDDEFATY YCQQYHSFPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:430)
ADI-29429	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTTLVTV SS (SEQ ID NO:431)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSISGLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDDEFATY YCQQYELYSYTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:432)
ADI-29447 (F47)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE WIGEIDHSGSTNYPNPSLKSRVTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGTTLVTV SS (SEQ ID NO:433)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDDEFATY YCQQYDTFITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:434)
ADI-27727	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCK ASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLE	DIVMTQSPDSLAVSLGERATIN CKSSQSVLYSSNNKNYLAWY

	WMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTI TADESTSTAYMELSSLRSEDNAV YYCARGDSSIRHAYYYYGMDVW GQGTTVTVSS (SEQ ID NO:435) CDR1 (SEQ ID NO:437) – GTFSSY AIS (no según Kabat) o SYAIS (SEQ ID NO:438) CDR2 (SEQ ID NO:439) – GIPIFGTANYAQKFQG CDR3 (SEQ ID NO:442) – ARGDSSIRHAYYYYGMDV (no según Kabat) o GDSSIRHAYYYYGMDV (SEQ ID NO:443)	QQKPGQPPKLLIYWASTRESG VPDRFSGSGSGTDFTLTISLQ AEDVAVYYCQQYYSTPITFGG GTKVEIK (SEQ ID NO:436) CDR1 (SEQ ID NO:440) – KSSQSVLYSSNNKNYLA CDR2 (SEQ ID NO:441) – WASTRES CDR3 (SEQ ID NO:444) – QQYYSTPIT
ADI-29443 (F43)	QLQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTV SGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLE WIGSIYYSGSTYYNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY CARGSDRFHPYFDYWGGQTLVT VSS (SEQ ID NO:445) CDR1 (SEQ ID NO:446) – GSISSSSYYWG (no según Kabat) o SSSYWYG (SEQ ID NO:447) CDR2 (SEQ ID NO:448) – SIYYSGSTYYNPSLKS CDR3 (SEQ ID NO:449) – ARGSDRFHPYFDY (no según Kabat) o GSDRFHPYFDY (SEQ ID NO:450)	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSRYLAWYQQKPGQ APRLLIYDASNRATGIPARFSG SGSGTDFTLTISLEPEDFAVY YCQQFDTWPPTFGGGGTKVEIK (SEQ ID NO:454) CDR1 (SEQ ID NO:451) – RASQSVSRYLA CDR2 (SEQ ID NO:452) – DASNRAT CDR3 (SEQ ID NO:453) – QQFDTWPPT
ADI-29404 (F04)	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCA VYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLE	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK

	WIGEIDHSGSTNYNPSLKSRTIS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY YCARARGPWSFDPWGQGLTVV SS (SEQ ID NO:455)	APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDDEFATY YCEQYDSYPTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:456)
ADI-28200	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSC ASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLE WMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTI TADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARRGRKASGSFYFYYGMDV WGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:457) CDR1 (SEQ ID NO:437) – GTFSSYAIS CDR2 (SEQ ID NO:459) – GIPIFGTANYAQKFQG CDR3 (SEQ ID NO:460) – ARRGRKASGSFYFYYGMDV	DIVMTQSPDSLAVSLGERATIN CESSQSLLNSGNQKNYLTWY QQKPGQPPKPLIYWASTRESG VPDRFSGSGSGTDFTLTISLQ AEDVAVYYCQNDYSYPYTFG QGTKLEIK (SEQ ID NO:458) CDR1 (SEQ ID NO:461) – ESSQSLLNSGNQKNYLT CDR2 (SEQ ID NO:441) – WASTRES CDR3 (SEQ ID NO:462) – QNDYSYPYT
ADI-29379 (E79)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQG LEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGR VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGAPNYGDTTHDYYY MDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO:463) CDR1 (SEQ ID NO:465) – YTFTSYMH (no según Kabat) o SYMH (SEQ ID NO:466) CDR2 (SEQ ID NO:467) - IINPSGGSTSYAQKFQG CDR3 (SEQ ID NO:468) – ARGAPNYGDTTHDYYYMDV (no según Kabat) o GAPNYGDTTHDYYYMDV (SEQ	EIVMTQSPATLSVSPGERATLS CRASQSVSSNLAWYQQKPGQ APRLLIYGASTRATGIPARFSG SGSGTEFTLTISLQSEDFAVY YCQQYDDWPFTFGGGTKVEI K (SEQ ID NO:464) CDR1 (SEQ ID NO:470) - RASQSVSSNLA CDR2 (SEQ ID NO:63) - GASTRAT CDR3 (SEQ ID NO:472) - QQYDDWPFT

	ID NO:469)	
ADI-29463 (F63)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTGYYMHWVRQAPGQG LEWMGWINPNSGGTNYAQKFQG RVTMTRDTSISTAYMELSRLRSD DTAVYYCARDTGEYYDTDDHGM DVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:473) CDR1 (SEQ ID NO:475) - YTFTGYYMH (no según Kabat) o GYYMH (SEQ ID NO:476) CDR2 (SEQ ID NO:477) - WINPNSGGTNYAQKFQG CDR3 (SEQ ID NO:478) – ARDTGEYYDTDDHGMDV (no según Kabat) o DTGEYYDTDDHGMDV (SEQ ID NO:479)	EIVLTQSPGTLSPGERATLS CRASQSVSSNLAWYQQKPGQ APRLLIYGASTRATGIPARFSG SGSGTEFTLTISLQSEDFAVY YCQQDDYWPPTFGGGGTKVEI K (SEQ ID NO:474) CDR1 (SEQ ID NO:480) - RASQSVSSNLA CDR2 (SEQ ID NO:63) - GASTRAT CDR3 (SEQ ID NO:481) - QQDDYWPPT
ADI-27744 (A44)	EVQLLESGLLVQPGGSLRLSCA ASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLE WVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAKDGGYYDSGAGDYWGQG TLVTVSS (SEQ ID NO:482) CDR1 (SEQ ID NO:484) – FTFSSYAMS (no según Kabat) o SYAMS (SEQ ID NO:3) CDR2 (SEQ ID NO:486) - AISGSGGSTYYADSVKG CDR3 (SEQ ID NO:487) - AKDGGYYDSGAGDY (no según Kabat) o DGGYYDSGAGDY (SEQ	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTIT CRASQGIDSWLAWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQGVSYPRTEFGGGGTKVEIK (SEQ ID NO:483) CDR1 (SEQ ID NO:489) - RASQGIDSWLA CDR2 (SEQ ID NO:224) - AASSLQS CDR3 (SEQ ID NO:491) - QQGVSYPRT

	ID NO:488)	
ADI-27749 (A49)	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCA ASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGAPMGAAAGWFDPWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO:492) CDR1 (SEQ ID NO:494) - FTFSSYSMN (no según Kabat) o SYSMN (SEQ ID NO:495) CDR2 (SEQ ID NO:496) - SISSSSSYIYYADSVKG CDR3 (SEQ ID NO:497) – ARGAPMGAAAGWFDP (no según Kabat) o GAPMGAAAGWFDP (SEQ ID NO:498)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITIT CRASQGISSWLAWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQGVSPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:493) CDR1 (SEQ ID NO:530) - RASQGISSWLA CDR2 (SEQ ID NO:224) - AASSLQS CDR3 (SEQ ID NO:499) - QQGVSPRT
	scFv (VL-VH) con G44C en VH y G100C en VL, enlazador en cursiva: DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGVSP PRTFG<u>C</u>GTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLV KPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGK<u>C</u>LEWVSSISSSSSYIY YADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAPMGAA AGWFDPWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:500)	
ADI-29378 (E78)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTSYMHWRQAPGQG LEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGR VTMTRDTSTSTVYMELSSLRSED TAVYYCAREGAGFAYGMDYYY MDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO:501) CDR1 (SEQ ID NO:465) – YTFTSYMH (no según Kabat) o	EIVLTQSPATLSLSPGERATLS CRASQSVSSYLAWYQQKPGQ APRLIYDASNRATGIPARFSG SGSGTDFTLTISSLEPEDFAVY YCQQSDNWPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:502) CDR1 (SEQ ID NO:506) - RASQSVSSYLA CDR2 (SEQ ID NO:452) -

	SYMH (SEQ ID NO:466) CDR2 (SEQ ID NO:503) - IINPSGGSTSYAQKFQG CDR3 (SEQ ID NO:504) – AREGAGFAYGMDYYYMDV (no según Kabat) o EGAGFAYGMDYYYMDV (SEQ ID NO:505)	DASNRAT CDR3 (SEQ ID NO:507) - QQSDNWPFT
A49MI	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCA ASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGAPIGAAAGWFDPWGQG TLVTVSS (SEQ ID NO:508) CDR1: FTFSSYSMN (SEQ ID NO:494) (no según Kabat) o SYSMN (SEQ ID NO:495) CDR2: SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID NO:496) CDR3: (no según Kabat) ARGAPIGAAAGWFDP (SEQ ID NO:509) o GAPIGAAAGWFDP (SEQ ID NO:510)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVIT CRASQGISSWLAWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQGVSPFRTEFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:493) CDR1 (SEQ ID NO:530) - RASQGISSWLA CDR2 (SEQ ID NO:224) - AASSLQS CDR3 (SEQ ID NO:499) - QQGVSPFRTE
A49MQ	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCA ASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGAPQGAAAGWFDPWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO:511) CDR1: FTFSSYSMN (SEQ ID NO:494) (no según Kabat) o SYSMN (SEQ ID NO:495)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVIT CRASQGISSWLAWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQGVSPFRTEFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:493) CDR1 (SEQ ID NO:530) - RASQGISSWLA CDR2 (SEQ ID NO:224) - AASSLQS

	CDR2: SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID NO:496) CDR3 (no según Kabat) (SEQ ID NO:512) - ARGAPQGAAAGWFDP or CDR3 (SEQ ID NO:513) - GAPQGAAAGWFDP	CDR3 (SEQ ID NO:499) - QQGVSPRT
A49ML	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCA ASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGAPLGAAAGWFDPWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO:514) CDR1: FTFSSYSMN (SEQ ID NO:494) (no según Kabat) o SYSMN (SEQ ID NO:495) CDR2: SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID NO:496) CDR3 (no según Kabat) (SEQ ID NO:515) - ARGAPLGAAAGWFDP o CDR3 (SEQ ID NO:516) - GAPLGAAAGWFDP	DIQMTQSPSSVSASVGDRVIT CRASQGISSWLAWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQGVSPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:493) CDR1 (SEQ ID NO:530) - RASQGISSWLA CDR2 (SEQ ID NO:224) - AASSLQS CDR3 (SEQ ID NO:499) - QQGVSPRT
A49MF	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCA ASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGAPFGAAAGWFDPWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO:517) CDR1: FTFSSYSMN (SEQ ID NO:494) (no según Kabat) o SYSMN (SEQ ID NO:495) CDR2: SISSSSSYIYYADSVKG	DIQMTQSPSSVSASVGDRVIT CRASQGISSWLAWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISSLQPEDFATY YCQQGVSPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:493) CDR1 (SEQ ID NO:530) - RASQGISSWLA CDR2 (SEQ ID NO:224) - AASSLQS CDR3 (SEQ ID NO:499) -

	(SEQ ID NO:496) CDR3 (no según Kabat) (SEQ ID NO:518) - ARGAPFGAAAGWFDP o CDR3 (SEQ ID NO:519) - GAPFGAAAGWFDP	QQGVSPRT
A49MV	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCA ASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGAPVGAAAGWFDPWGQ GTLVTVSS (SEQ ID NO:520) CDR1: FTFSSYSMN (SEQ ID NO:494) (no según Kabat) o SYSMN (SEQ ID NO:495) CDR2: SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID NO:496) CDR3 (no según Kabat) (SEQ ID NO:521) - ARGAPVGAAAGWFDP o CDR3 (SEQ ID NO:522) - GAPVGAAAGWFDP	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTIT CRASQGISSWLAWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQGVSPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:493) CDR1 (SEQ ID NO:530) - RASQGISSWLA CDR2 (SEQ ID NO:224) - AASSLQS CDR3 (SEQ ID NO:499) - QQGVSPRT
A49 consenso	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCA ASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE WVSSISSSSSYIYYADSVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAV YYCARGAPXGAAAGWFDPWGQ GTLVTVSS, en donde X es M, L, I, V, Q o F (SEQ ID NO:523) CDR1: FTFSSYSMN (SEQ ID NO:494) (no según Kabat) o SYSMN (SEQ ID NO:495) CDR2: SISSSSSYIYYADSVKG	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTIT CRASQGISSWLAWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQGVSPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:493) CDR1 (SEQ ID NO:530) - RASQGISSWLA CDR2 (SEQ ID NO:224) - AASSLQS CDR3 (SEQ ID NO:499) - QQGVSPRT

	(SEQ ID NO:496) CDR3 (no según Kabat) (SEQ ID NO:524) - ARGAPXGAAAGWFDP o CDR3 (SEQ ID NO:525) – GAPXGAAAGWFDP, en donde X es M, L, I, V, Q o F	
proteína de unión NKG2D en el documento US 9.273.136	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCA ASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGL EWVAFIRYDGSNKYYADSVKGRF TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAKDRGLGDGTYFDYWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:526)	QSALTQPASVSGSPGQSITISCS GSSSNIGNNAVNWYQQLPGK APKLLIYYDDLPSGVSDRFSG SKSGTSAFLAISGLQSEDEADY YCAAWDDSLNGPVFGGGTKL TVL (SEQ ID NO:527)
proteína de unión NKG2D en el documento US 7.879.985	QVHLQESGPGLVKPSETLSLTCTV SDDSISSYYWSWIRQPPGKGLEWI GHISYSGSANYNPSLKSRTVISVD TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC ANWDDAFNIWGQGTMTVTSS (SEQ ID NO:528)	EIVLTQSPGTLSPGERATLS CRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQYGSSPWTFGQGTKVEI K (SEQ ID NO:529)

[0175] En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D (*p. ej.*, NKG2D humana) comprende un dominio variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (*p. ej.*, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica al VH de un anticuerpo desvelado en la Tabla 1, y un dominio variable de cadena ligera (VL) de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (*p. ej.*, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica al VL del mismo anticuerpo desvelado en la Tabla 1. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada y la CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena ligera, determinado según Kabat (véase Kabat *et al.*, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, publicación del NIH N.º 91-3242, Bethesda), Chothia (véase, *p. ej.*, Chothia C y Lesk A M, (1987), J. Mol. Biol. 196: 901-917), MacCallum (véase MacCallum R M *et al.*, (1996) J. Mol. Biol. 262: 732-745), o cualquier otro método de

determinación de CDR conocido en la técnica, de las secuencias VH y VL de un anticuerpo desvelado en la Tabla 1. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada y la CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena ligera de un anticuerpo desvelado en la Tabla 1.

[0176] En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un dominio variable de cadena pesada relacionado con la SEQ ID NO:392, de manera que tiene una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la SEQ ID NO:392, y/o que incorpora secuencias de aminoácidos idénticas a la secuencias de CDR1 (SEQ ID NO:394), CDR2 (SEQ ID NO:395) y CDR3 (SEQ ID NO:396) de la SEQ ID NO:392. El dominio variable de cadena pesada que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO:392 puede acoplarse con una variedad de dominios variables de cadena ligera para formar un sitio de unión a NKG2D. Por ejemplo, el primer sitio de unión a antígeno que incorpora un dominio variable de cadena pesada que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la SEQ ID NO:392 puede incorporar además un dominio variable de cadena ligera que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con cualquiera de las secuencias seleccionadas del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 393, 398, 400, 402, 404, 408, 410, 412, 414, 416, 418, 420, 422, 424, 426, 428, 430, 432 y 434. Por ejemplo, el primer sitio de unión a antígeno incorpora un dominio variable de cadena pesada con secuencias de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idénticas a la SEQ ID NO:392 y un dominio variable de cadena ligera con secuencias de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntica a cualquiera de las secuencias seleccionadas del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 393, 398, 400, 402, 404, 408, 410, 412, 414, 416, 418, 420, 422, 424, 426, 428, 430, 432 y 434.

[0177] En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:435, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la SEQ ID NO:436. En

determinadas realizaciones, el VH comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 437 o 438, 439 y 442 o 443, respectivamente. En determinadas realizaciones, el VL comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 440, 441 y 444, respectivamente. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno comprende (a) un VH que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 437 o 438, 439 y 442 o 443, respectivamente; y (b) un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 440, 441 y 444, respectivamente.

[0178] En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:445, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la SEQ ID NO:454. En determinadas realizaciones, el VH comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 446 o 447, 448 y 449 o 450, respectivamente. En determinadas realizaciones, el VL comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 451, 452 y 453, respectivamente. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno comprende (a) un VH que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 446 o 447, 448 y 449 o 450, respectivamente; y (b) un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 451, 452 y 453, respectivamente.

[0179] En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:455, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la SEQ ID NO:456.

[0180] En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej.,

al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:457, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la SEQ ID NO:458. En determinadas realizaciones, el VH comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 437, 459 y 460, respectivamente. En determinadas realizaciones, el VL comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 461, 441 y 462, respectivamente. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno comprende (a) un VH que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 437, 459 y 460, respectivamente; y (b) un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 461, 441 y 462, respectivamente.

[0181] En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:463, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la SEQ ID NO:464. En determinadas realizaciones, el VH comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 465 o 466, 467 y 468 o 469, respectivamente. En determinadas realizaciones, el VL comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 470, 63 y 472, respectivamente. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno comprende (a) un VH que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 465 o 466, 467 y 468 o 469, respectivamente; y (b) un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 470, 63 y 472, respectivamente.

[0182] En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:473, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p.

ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la SEQ ID NO:474. En determinadas realizaciones, el VH comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 475 o 476, 477 y 478 o 479, respectivamente. En determinadas realizaciones, el VL comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 480, 63 y 481, respectivamente. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno comprende (a) un VH que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 475 o 476, 477 y 478 o 479, respectivamente; y (b) un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 480, 63 y 481, respectivamente.

[0183] En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:501, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la SEQ ID NO:502. En determinadas realizaciones, el VH comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 465 o 466, 503 y 504 o 505, respectivamente. En determinadas realizaciones, el VL comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 506, 452 y 507, respectivamente. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno comprende (a) un VH que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 465 o 466, 503 y 504 o 505, respectivamente; y (b) un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 506, 452 y 507, respectivamente.

[0184] En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:482, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la SEQ ID NO:483. En determinadas realizaciones, el VH comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las

secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 484 o 3, 486 y 487 o 488, respectivamente. En determinadas realizaciones, el VL comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 489, 490 y 491, respectivamente. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno comprende (a) un VH que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 484 o 3, 486 y 487 o 488, respectivamente; y (b) un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 489, 490 y 491, respectivamente.

[0185] En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:492, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la SEQ ID NO:493. En determinadas realizaciones, el VH comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 494 o 495, 496 y 497 o 498, respectivamente. En determinadas realizaciones, el VL comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 530, 224 y 499, respectivamente. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno comprende (a) un VH que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 494 o 495, 496 y 497 o 498 respectivamente; y (b) un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 530, 224 y 499, respectivamente.

[0186] En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:508, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la SEQ ID NO:493. En determinadas realizaciones, el VH comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 494 o 495, 496 y 509 o 510, respectivamente. En determinadas realizaciones, el VL comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las

secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 530, 224 y 499, respectivamente. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno comprende (a) un VH que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 494 o 495, 496 y 509 o 510, respectivamente; y (b) un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 530, 224 y 499, respectivamente.

[0187] En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:511, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la SEQ ID NO:493. En determinadas realizaciones, el VH comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 494 o 495, 496 y 512 o 513, respectivamente. En determinadas realizaciones, el VL comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 530, 224 y 499, respectivamente. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno comprende (a) un VH que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 494 o 495, 496 y 512 o 513, respectivamente; y (b) un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 530, 224 y 499, respectivamente.

[0188] En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:514, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la SEQ ID NO:493. En determinadas realizaciones, el VH comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 494 o 495, 496 y 515 o 516, respectivamente. En determinadas realizaciones, el VL comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 530, 224 y 499, respectivamente. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno comprende (a) un VH que

comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 494 o 495, 496 y 515 o 516, respectivamente; y (b) un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 530, 224 y 499, respectivamente.

[0189] En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:517, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la SEQ ID NO:493. En determinadas realizaciones, el VH comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 494 o 495, 496 y 518 o 519, respectivamente. En determinadas realizaciones, el VL comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 530, 224 y 499, respectivamente. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno comprende (a) un VH que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 494 o 495, 496 y 518 o 519, respectivamente; y (b) un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 530, 224 y 499, respectivamente.

[0190] En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:520, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la SEQ ID NO:493. En determinadas realizaciones, el VH comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 494 o 495, 496 y 521 o 522, respectivamente. En determinadas realizaciones, el VL comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 530, 224 y 499, respectivamente. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno comprende (a) un VH que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 494 o 495, 496 y 521 o 522, respectivamente; y (b) un VL que comprende la CDR1,

CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 530, 224 y 499, respectivamente.

[0191] En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:523, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la SEQ ID NO:493. En determinadas realizaciones, el VH comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 494 o 495, 496 y 524 o 525, respectivamente. En determinadas realizaciones, el VL comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 530, 224 y 499, respectivamente. En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno comprende (a) un VH que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 494 o 495, 496 y 524 o 525, respectivamente; y (b) un VL que comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 530, 224 y 499, respectivamente.

[0192] En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:526, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la SEQ ID NO:527.

[0193] En determinadas realizaciones, el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:528, y una VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la SEQ ID NO:529.

[0194] Las proteínas de unión multiespecíficas pueden unirse a células que expresan NKG2D, que incluyen, pero sin limitación, células NK, linfocitos T $\gamma\delta$ y linfocitos T $\alpha\beta$ CD8⁺.

Después de unirse a NKG2D, las proteínas de unión multiespecíficas pueden bloquear la unión de ligandos naturales, tales como ULBP6 y MICA, con NKG2D y activar a las células NK.

[0195] Las proteínas de unión multiespecíficas se unen a las células que expresan CD16, un receptor de Fc en la superficie de los leucocitos, incluyendo linfocitos citolíticos naturales, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, mastocitos y células dendríticas foliculares. Una proteína de la presente divulgación se une a NKG2D con una afinidad de K_D de 2 nM a 120 nM, p. ej., de 2 nM a 110 nM, de 2 nM a 100 nM, de 2 nM a 90 nM, de 2 nM a 80 nM, de 2 nM a 70 nM, de 2 nM a 60 nM, de 2 nM a 50 nM, de 2 nM a 40 nM, de 2 nM a 30 nM, de 2 nM a 20 nM, de 2 nM a 10 nM, de aproximadamente 15 nM, aproximadamente 14 nM, aproximadamente 13 nM, aproximadamente 12 nM, aproximadamente 11 nM, aproximadamente 10 nM, aproximadamente 9 nM, aproximadamente 8 nM, aproximadamente 7 nM, aproximadamente 6 nM, aproximadamente 5 nM, aproximadamente 4,5 nM, aproximadamente 4 nM, aproximadamente 3,5 nM, aproximadamente 3 nM, aproximadamente 2,5 nM, aproximadamente 2 nM, aproximadamente 1,5 nM, aproximadamente 1 nM, entre aproximadamente 0,5 nM y aproximadamente 1 nM, de aproximadamente 1 nM a aproximadamente 2 nM, de aproximadamente 2 nM a 3 nM, de aproximadamente 3 nM a 4 nM, de aproximadamente 4 nM a aproximadamente 5 nM, de aproximadamente 5 nM a aproximadamente 6 nM, de aproximadamente 6 nM a aproximadamente 7 nM, de aproximadamente 7 nM a aproximadamente 8 nM, de aproximadamente 8 nM a aproximadamente 9 nM, de aproximadamente 9 nM a aproximadamente 10 nM, de aproximadamente 1 nM a aproximadamente 10 nM, de aproximadamente 2 nM a aproximadamente 10 nM, de aproximadamente 3 nM a aproximadamente 10 nM, de aproximadamente 4 nM a aproximadamente 10 nM, de aproximadamente 5 nM a aproximadamente 10 nM, de aproximadamente 6 nM a aproximadamente 10 nM, de aproximadamente 7 nM a aproximadamente 10 nM o de aproximadamente 8 nM a aproximadamente 10 nM. En algunas realizaciones, los sitios de unión a NKG2D se unen a NKG2D con una K_D de 10 a 62 nM.

Sitio de unión a CEACAM5

[0196] El sitio de unión a CEACAM5 de la proteína de unión multiespecífica desvelada en el presente documento comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera. La Tabla 2 enumera algunas secuencias ilustrativas de dominios variables de cadena pesada y dominios variables de cadena ligera que, en combinación, pueden unirse a CEACAM5. Las secuencias de CDR se identifican con la numeración de Chothia y Kabat como se indica. Las mutaciones de cisteína para la formación de enlaces disulfuro se indican

subrayadas. Las secuencias de scFv incluyen un enlazador (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532) (en cursiva) entre VH y VL.

Tabla 2. Secuencias de sitios de unión a antígeno ilustrativas que se unen a CEACAM5

	VH	VL
Par análogo A1 (procedente de PH_420-CEACAM5)	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK<u>C</u>LEWVSAIFNSGGSTYYADSVKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTALYYCAKDLGGYNYGLFDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:567) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNSGGS (SEQ ID NO:4) (Chothia) o AIFNSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:5) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	DIRMTQSPSTLSASVGDRVTITCWASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQYNSYSYTFG<u>C</u>GTKLEIK (SEQ ID NO:568) CDR1: WASQSISSWLA (SEQ ID NO:7) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSYT (SEQ ID NO:9)
scFv para GB1/GB2 (procedente del par análogo A1)	GB1 (VL-VH): DIRMTQSPSTLSASVGDRVTITCWASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQYNSYSYTFG<u>C</u>GTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK<u>C</u>LEWVSAIFNSGGSTYYADSVKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTALYYCAKDLGGYNYGLFDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:569) GB2 (VH-VL): QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK<u>C</u>LEWVSAIFNSGGSTYYADSVKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTALYYCAKDLGGYNYGLFDYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIRMTQSPSTLSASVGDRVTITCWASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQYNSYSYTFG<u>C</u>GTKLEIK (SEQ ID NO:586)	
Par análogo A2 (VH procedente de PH_420-CEACAM5_VH_Variante)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGK<u>C</u>LEWVSAIFNSGGSTYYADSVKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTALYYCAKDLGGYNYGLFDYWGQGTLLTV (SEQ ID NO:587)	DIRMTQSPSTLSASVGDRVTITCWASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQYNSYSYTFG<u>C</u>GTKLEIK (SEQ ID NO:588) CDR1: WASQSISSWLA (SEQ ID NO:10)

	VH	VL
1 (QE) y VL procedente de PH_420- CEACAM5)	CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNSGGS (SEQ ID NO:4) (Chothia) o AIFNSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:5) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	NO:7) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSYT (SEQ ID NO:9)
scFv para GB3/ GB4 (procedente del par análogo A2)	GB3 (VH-VL): EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKCLE WVSAIFNSGGSTYYADSVKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAL YYCAKDLGGYNYGLFDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDIRMTQSPSTLSASVGDRVTITCWASQSISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQYNSYS YTFGC²GTKLEIK (SEQ ID NO:570) GB4 (VL-VH): DIRMTQSPSTLSASVGDRVTITCWASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLI YKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQYNSYSYT FG²GTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGGGLVQPGGS LRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKCLEWVSAIFNSGGSTYYADSV KGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDLGGYNYGLFDY WGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:589)	
Par análogo A3 (procedente de 1078_C04- CEACAM5)	QVQLVQSGGGLVQPGGSQRLS CAASGFTFTSYAMSWVRQAPG KCLEWVSAISGTGDSTFYADSV KGRFTFSRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCAKDLGWLQYG LFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:590) CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGDS (SEQ ID NO:36) (Chothia) o AISGTGDSTFYADSVKG (SEQ ID NO:37) (Kabat) CDR3: DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38)	DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCRA SQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPDRFSGSGTDFTL TISRLEPEDFAVYYCQQYNNWPLT FG²GTKVEIK (SEQ ID NO:591) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)

	VH	VL
scFv para GB5/GB6 (procedente del par análogo A3)	GB5 (VH-VL): QVQLVQSGGGLVQPGGSQRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGK<u>C</u>LEWVSAISGTGDSTFYADSVKGRFTFSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGWLQYGLFDYWGQGTLLTVVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGGSDIQLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYNNWPLTFG<u>C</u>GTKVEIK (SEQ ID NO:571) GB6 (VL-VH) DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYNNWPLTFG<u>C</u>GTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGGGLVQPGGSQRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGK<u>C</u>LEWVSAISGTGDSTFYADSVKGRFTFSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGWLQYGLFDYWGQGTLLTVVSSG (SEQ ID NO:592)	
Par análogo A4 (procedente de 1078_C04 CEACAM5_VH_Variante 1 (QE))	EVQLVQSGGGLVQPGGSQRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGK<u>C</u>LEWVSAISGTGDSTFYADSVKGRFTFSRDNSKNTLYLQMNSLR AEDTAVYYCAKDLGWLQYGLFDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:593) CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGDS (SEQ ID NO:36) (Chothia) o AISGTGDSTFYADSVKG (SEQ ID NO:37) (Kabat) CDR3: DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38)	DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYNNWPLTFG<u>C</u>GTKVEIK (SEQ ID NO:594) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)
SCFv para GB7/GB8 (procedente del par análogo A4)	GB7 (VH-VL): EVQLVQSGGGLVQPGGSQRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGK<u>C</u>LEWVSAISGTGDSTFYADSVKGRFTFSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGWLQYGLFDYWGQGTLLTVVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGGSDIQLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYNNWPLTFG<u>C</u>GTKVEIK (SEQ ID NO:572) GB8 (VL-VH): DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLI	

	VH	VL
	YGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYNNWPL TFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVQSGGGLVQPGG SQRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKCLEWVSAISGTGDSTFYADS VKGRFTFSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGWLQYGLFD YWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:595)	
Par análogo A5 (procedente de 1078_C04-CEACAM5)	QVQLVQSGGGLVQPGGSQRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPG KCLEWVSAISGTGDSTFYADSVKGRFTFSRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCAKDLGWLQYGLFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:596) CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGDS (SEQ ID NO:36) (Chothia) o AISGTGDSTFYADSVKG (SEQ ID NO:37) (Kabat) CDR3: DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38)	DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYNNWPLT FGCCTKVEIK (SEQ ID NO:597) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)
SCFv para GB9/GB10 (procedente del par análogo A5)	GB9 (VL-VH): DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLI YGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYNNWPL TFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQSGGGLVQPG GSQRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKCLEWVSAISGTGDSTFYAD SVKGRFTFSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGWLQYGLF DYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:573) GB10 (VH-VL): QVQLVQSGGGLVQPGGSQRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKCLE WVSAISGTGDSTFYADSVKGRFTFSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAKDLGWLQYGLFDYWGQGTLVTVSSGGGGGGGGGGSGGGGGSG GGGGSDIQLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY NNWPLTFGCCTKVEIK (SEQ ID NO:598)	
Par análogo A6 (procedente de 1079_H05-CEACAM5)	QVQLQESGPGLVRPSGTLSTLC AVSGGSISSPTWWSWVRQPQPK CLEWIGEIHPSGRNTNYPNLSKSR VTISVDKSKNQFSLKLGSVTAA DTAVYYCAREGFYFGSGNYYY FDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID	DIVMTQTPATLSASVGDRVITICR ASQSVRSNLAWYQQKPGQAPRLLI YGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISLQSEDFAVYYCQQYNNWPTF GCGTRLEIK (SEQ ID NO:600)

	VH	VL
	NO:599) CDR1: GGSISSPT (SEQ ID NO:56) (Chothia) o SPTWWS (SEQ ID NO:57) (Kabat) CDR2: HPSGR (SEQ ID NO:58) (Chothia) o EIHPSGRTNYNPSLKS (SEQ ID NO:59) (Kabat) CDR3: EGFYYGSGNYYYFDY (SEQ ID NO:60)	CDR1: RASQSVRSNLA (SEQ ID NO:62) CDR2: GASTRAT (SEQ ID NO:63) CDR3: QQYNNWPT (SEQ ID NO:64)
SCFv para GB11/GB12 (procedente del par análogo A6)	GB11(VH-VL): QVQLQESGPGLVRPSGTLSTCAVSGGSISSPTWWSWVRQPPGKCLEWIGEIHPSGRTNYNPSLKSRTISVDKSKNQFSLKLSVTAAADTAVYYCAREGFYYGSGNYYYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGSDIVMTQTPATLSASVGDRVTITCRASQSVRSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNNWPTFGCGTRLEIK (SEQ ID NO:574) GB12 (VL-VH): DIVMTQTPATLSASVGDRVTITCRASQSVRSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNNWPTFGCGTRLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLQESGPGLVRPSGTLSTCAVSGGSISSPTWWSWVRQPPGKCLEWIGEIHPSGRTNYNPSLKSRTISVDKSKNQFSLKLSVTAAADTAVYYCAREGFYYGSGNYYYFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:601)	
Par análogo A7 (VH procedente de 1079_H05-CEACAM5_VH_Variante 1 (QE))	EVQLQESGPGLVRPSGTLSTCAVSGGSISSPTWWSWVRQPPGKCLEWIGEIHPSGRTNYNPSLKSRTISVDKSKNQFSLKLSVTAAADTAVYYCAREGFYYGSGNYYYFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:602) CDR1: GGSISSPT (SEQ ID NO:56) (Chothia) o SPTWWS (SEQ ID NO:57) (Kabat) CDR2: HPSGR (SEQ ID NO:58) (Chothia) o EIHPSGRTNYNPSLKS (SEQ ID NO:59) (Kabat) CDR3: EGFYYGSGNYYYFDY	DIVMTQTPATLSASVGDRVTITCRASQSVRSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNNWPTFGCGTRLEIK (SEQ ID NO:603) CDR1: RASQSVRSNLA (SEQ ID NO:62) CDR2: GASTRAT (SEQ ID NO:63) CDR3: QQYNNWPT (SEQ ID NO:64)

	VH	VL
	(SEQ ID NO:60)	
scFv para GB13/ GB14 (procedente del par análogo A7)	GB13 (VH-VL): EVQLQESGPGGLVRPSGTLSTCAVSGGSISSPTWWSWVRQPPGKCLEWIGEIHPSGRNTNYPNPSLKSRTISVDKSKNQFSLKLGSVTAADTAVYYCAREGFYYGSGNYYYYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPATLSASVGDRVTITCRASQSVRSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNNWPTFGCGTRLEIK (SEQ ID NO:575) GB14 (VL-VH): DIVMTQTPATLSASVGDRVTITCRASQSVRSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNNWPTFGCGTRLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQTPATLSASVGDRVTITCRASQSVRSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNNWPTFGCGTRLEIK (SEQ ID NO:604)	
Par análogo A8 (procedente de 1079_H05-CEACAM5)	QVQLQESGPGGLVRPSGTLSTCAVSGGSISSPTWWSWVRQPPGKCLEWIGEIHPSGRNTNYPNPSLKSRTISVDKSKNQFSLKLGSVTAADTAVYYCAREGFYYGSGNYYYYFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:605) CDR1: GGSISSPT (SEQ ID NO:56) (Chothia) o SPTWWS (SEQ ID NO:57) (Kabat) CDR2: HPSGR (SEQ ID NO:58) (Chothia) o EIHPSGRNTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:59) (Kabat) CDR3: EGFYYGSGNYYYYFDY (SEQ ID NO:60)	DIVMTQTPATLSASVGDRVTITCRASQSVRSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNNWPTFGCGTRLEIK (SEQ ID NO:606) CDR1: RASQSVRSNLA (SEQ ID NO:62) CDR2: GASTRAT (SEQ ID NO:63) CDR3: QQYNNWPT (SEQ ID NO:64)
SCFv para GB15/GB16 (procedente del par análogo A8)	GB15 (VL-VH): DIVMTQTPATLSASVGDRVTITCRASQSVRSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNNWPTFGCGTRLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGVQLQESGPGGLVRPSGTLSTCAVSGGSISSPTWWSWVRQPPGKCLEWIGEIHPSGRNTNYPNPSLKSRTISVDKSKNQFSLKLGSVTAADTAVYYCAREGFYYGSGNYYYYFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:576)	

	VH	VL
	GB16 (VH-VL): QVQLQESGPGLVVRPSGTL^{SL}TC^{AV}SGGSISSPTWWSWVRQPPGK^{CLE} WIGEIHPSGR^{TN}YN^{NP}SLKSRVTISVDKSKNQFSLKLGSVTAADTAVYY CAREGFYYGSGNYYYFDYWGGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDIVMTQTPATLSASVGDRVTITCRASQSVRSNLAWYQQKPGQAP RLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTIS^{SL}QSEDFAVYYCQQYNN WPTFG^CGTRLEIK (SEQ ID NO:607)	
Par análogo A9 (procedente de 7A10.A7-CEACAM5-B.01)	QVQLVESGGDVVQPG^{RSL}R^{LSC} AASGFILSNYGMHWVRQAPGK^{CLE} WVAAMWYDGSNNYYEDSVKGRFTISRDN^{SKNTLYLQMN}SLRAEDTAVYYCARERVS^{RHFD} WHYYYGMDVWGQGT^{TVTVSS} (SEQ ID NO:608) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVK^G (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQ^{LLHS}NGYNYLDWYLQKPGQSP^{QLLIS}LG^{SIRAS}GV^{PDRFSGSGSGT} NFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQ^{TPRTFG^CGTKVDIT} (SEQ ID NO:609) CDR1: RSSQ^{LLHS}NGYNYLD (SEQ ID NO:74) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
scFv para GB17/GB18 (procedente del par análogo A9)	GB17 (VH-VL): QVQLVESGGDVVQPG^{RSL}R^{LSC}AASGFILSNYGMHWVRQAPGK^{CLE} WVAAMWYDGSNNYYEDSVKGRFTISRDN^{SKNTLYLQMN}SLRAEDTAVYYCARERVS^{RHFD} WHYYYGMDVWGQGT^{TVTVSS}GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQ^{LLHS}NGYNYLDWYLQKPGQSP^{QLLIS}LG^{SIRAS}GV^{PDRFSGSGSGTNFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFG^CGTKVDIT} (SEQ ID NO:577) GB18 (VL-VH): EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQ^{LLHS}NGYNYLDWYLQKPGQSP^{QLLIS}LG^{SIRAS}GV^{PDRFSGSGSGTNFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFG^CGTKVDIT} (SEQ ID NO:610)	
Par análogo A10	QVQLVESGGDVVQPG^{RSL}R^{LSC} AASGFILSNYGMHWVRQAPGK^{CLE}	EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQ^{LLHS}NGYNYLDWYLQKPGQSP

	VH	VL
(VH procedente de 7A10.A7-CEACAM5-B.01 y VL procedente de 7A10.A7-CEACAM5-B.01-N(L70)D VL)	<u>C</u>LEWVAAMWYDGSNNYYEDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERVS RHFDWHY YYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:611) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHY YYGMDV (SEQ ID NO:72)	QLLISLGSIRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFG<u>C</u>GTKVDIT (SEQ ID NO:612) CDR1: RSSQSLLHSNGYNYLD (SEQ ID NO:74) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
scFv para GB19/GB20 (procedente del par análogo A10)	GB19 (VH-VL): QVQLVESGGDVVQPG RSLRLSCAASGFILSNYGMHWVRQAPGK<u>C</u>LEWVAAMWYDGSNNYYEDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERVS RHFDWHY YYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGS GB20 (VL-VH): EIVMTQSPLSLPVT PGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFG<u>C</u>GTKVDITGGGGSGGGGS	
Par análogo A11 (VH procedente de 7A10.A7-CEACAM5-B.01 y VL procedente de 7A10.A7-CEACAM5-B.01-N(L70)Q VL)	QVQLVESGGDVVQPG RSLRLSCAASGFILSNYGMHWVRQAPGK<u>C</u>LEWVAAMWYDGSNNYYEDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERVS RHFDWHY YYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:614) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70)	EIVMTQSPLSLPVT PGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFG<u>C</u>GTKVDIT (SEQ ID NO:615) CDR1: RSSQSLLHSNGYNYLD (SEQ ID NO:74) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)

	VH	VL
	(Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	NO:76)
scFv para GB21/ GB22 (procedente del par análogo A11)	GB21 (VH-VL): QVQLVESGGDVVQPGRSRLRLSCAASGFILSNYGMHWVRQAPGKCLE WVAAMWYDGSNNYYEDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCARERVS RHF DWHYYYGMDVWGQGTTVT VSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSEIVMTQSPLSLPVT PGE PASISCRSSQSLLHSNGYNYLD WYLQKPGQSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGSGSGTQFTLTISRVEADV GFYYCMQALQTPRTFGCGTKVDIT (SEQ ID NO:579) GB22 (VL-VH): EIVMTQSPLSLPVT PGE PASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSP QLLISLGSIRASGVPDRFSGSGSGTQFTLTISRVEADVGFYYCMQALQ TPRTFGCGTKVDITGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGDVVQ PGRSLRLSCAASGFILSNYGMHWVRQAPGKCLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERVS RHF DWHYYYGMDVWGQGTTVT VSS (SEQ ID NO:616)	
Par análogo A12 (VH procedente de 7A10.A7- CEACAM5- B.01 y VL procedente de 7A10.A7- CEACAM5- B.01_VL_ Variante 1_(TA))	QVQLVESGGDVVQPGRSRLRLSC AASGFILSNYGMHWVRQAPGK CLEWVAAMWYDGSNNYYEDS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARERVS RHF D WHYYYGMDVWGQGTTVT VSS (SEQ ID NO:617) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	EIVMTQSPLSLPVT PGE PASISCRSS QSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSP QLLISLGSIRASGVPDRFSGSGSGT NFALTISRVEADVGFYYCMQAL QTPRTFGCGTKVDIT (SEQ ID NO:618) CDR1: RSSQSLLHSNGYNYLD (SEQ ID NO:74) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
scFv para GB23/GB24 (procedente	GB23 (VH-VL): QVQLVESGGDVVQPGRSRLRLSCAASGFILSNYGMHWVRQAPGKCLE	

	VH	VL
del par análogo A12)	WVAAMWYDGSNNYYEDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCARERVS RHFDWHYYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSEIVMTQSPLSLPVT PGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLD WYLQKPGQSPQLLISLGSIRASGV PDRFSGSGSGTNFALTISRVEAEDV GFYYCMQALQTPRTFGCGTKVDIT (SEQ ID NO:580)	
AB0246 (TA)	GB24 (VL-VH): EIVMTQSPLSLPVT PGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSP QLLISLGSIRASGV PDRFSGSGSGTNFALTISRVEAEDVGFYYCMQALQ TPRTFGCGTKVDITGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPLSLPVT PGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLISLGSIRASGV PDRFSGSGSGTNFALTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFGCGTKVDI T (SEQ ID NO:619)	
Par análogo A13 (VH procede de 7A10.A7- CEACAM5- B.01_VH_ Variante 1_(QE) y VL procede de 7A10.A7- CEACAM5- B.01- N(L70)D VL)	EVQLVESGGDVVQPGRSLRLSC AASGFILSNYGMHWVRQAPGK CLEWVAAMWYDGSNNYYEDS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARERVS RHFD WHYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:620) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	EIVMTQSPLSLPVT PGEPASISCRSS QSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSP QLLISLGSIRASGV PDRFSGSGSGT DFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQ TPRTFGCGTKVDIT (SEQ ID NO:621) CDR1: RSSQSLLHSNGYNYLD (SEQ ID NO:74) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
scFv para GB25/GB26 (procedente del par análogo A13)	GB25 (VH-VL): EVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFILSNYGMHWVRQAPGKCLE WVAAMWYDGSNNYYEDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCARERVS RHFDWHYYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSEIVMTQSPLSLPVT PGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLD WYLQKPGQSPQLLISLGSIRASGV PDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDV GFYYCMQALQTPRTFGCGTKVDIT (SEQ ID NO:581) GB26 (VL-VH): EIVMTQSPLSLPVT PGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSP QLLISLGSIRASGV PDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQ TPRTFGCGTKVDITGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGDVVQ	

	VH	VL
	PGRSLRLSCAASGFILSNYGMHWVRQAPGK <u>C</u> LEWVAAMWYDGSNNYYEDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERVSRHFDWHYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:622)	
Par análogo A14 (VH procede de 7A10.A7-CEACAM5-B.01_VH_Variante 1_(QE) y VL procede de 7A10.A7-CEACAM5-B.01-N(L70)D, N(L28)S VL)	EVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFILSNYGMHWVRQAPGK<u>C</u>LEWVAAMWYDGSNNYYEDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERVSRHFDWHYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:623) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	EIVMTQSPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLHSSGYNLYLDWYLQKPGQSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFG<u>C</u>GTKVDIT (SEQ ID NO:624) CDR1: RSSQSLHSSGYNLYLD (SEQ ID NO:630) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
scFv para GB27/GB28 (procedente del par análogo A14)	GB27 (VH-VL): EVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFILSNYGMHWVRQAPGK<u>C</u>LEWVAAMWYDGSNNYYEDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERVSRHFDWHYYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEIVMTQSPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLHSSGYNLYLDWYLQKPGQSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFG<u>C</u>GTKVDIT (SEQ ID NO:582) GB28 (VL-VH): EIVMTQSPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLHSSGYNLYLDWYLQKPGQSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFG<u>C</u>GTKVDITGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFILSNYGMHWVRQAPGK<u>C</u>LEWVAAMWYDGSNNYYEDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERVSRHFDWHYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:626)	
Par análogo A15 (VH procede de 7A10.A7-CEACAM5-B.01_VH_Variante	EVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFILSNYGMHWVRQAPGK<u>C</u>LEWVAAMWYDGSNNYYEDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERVSRHFDWHYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:627)	EIVMTQSPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLHSSGYNLYLDWYLQKPGQSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFG<u>C</u>GTKVDIT (SEQ ID NO:628)

	VH	VL
1_(QE) y VL procede de 7A10.A7- CEACAM5- B.01- N(L70)D, N(L28)Q VL)	CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	CDR1: RSSQSLLHSQGYNYLD (SEQ ID NO:629) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
scFv para GB29/GB30 (procedente del par análogo A15)	GB29 (VH-VL): EVQLVESGGDVVQPGRSRLRLSCAASGFILSNYGMHWVRQAPGKCLE WVAAMWYDGSNNYYEDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCARERVS RHF DWHYYYGMDVWGQGTTVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSEIVMTQSPLSLPVTGPGEPA SISRSSQSLLHSQGYNYLD WYLQKPGQSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDV GFYYCMQALQTPRTFGCGTKVDIT (SEQ ID NO:583) GB30 (VL-VH): EIVMTQSPLSLPVTGPGEPA SISRSSQSLLHSQGYNYLDWYLQKPGQSP QLLISLGSIRASGVPDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQ TPRTFGCGTKVDITGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGDVVQ PGRSRLRLSCAASGFILSNYGMHWVRQAPGKCLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERVS RHF DWHYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:490)	
Par análogo A16 (VH procede de 7A10.A7- CEACAM5- B.01_VH_ Variante 1_(QE) y VL procede de 7A10.A7- CEACAM5- B.01- N(L70)D, G(L29)A VL)	EVQLVESGGDVVQPGRSRLRLSC AASGFILSNYGMHWVRQAPGK CLEWVAAMWYDGSNNYYEDS VKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARERVS RHF D WHYYYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:471) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3:	EIVMTQSPLSLPVTGPGEPA SISRSS QSLLHSNAYNYLDWYLQKPGQSP QLLISLGSIRASGVPDRFSGSGSGT DFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQ TPRTFGCGTKVDIT(SEQ ID NO:485) CDR1: RSSQSLLHSNAYNYLD (SEQ ID NO:625) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)

	VH	VL
	ERVSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	
scFv para GB31/ GB32 (procedente del par análogo A16)	GB31 (VH-VL): EVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFI¹LSNYGMHWVRQAPGK²CLEWVAAMWYDGSNNYYEDSVKGRFTISRDN³SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERVS⁴RHFDWHYYYGMDVWGQGT⁵TVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSEIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSL⁶LHSNAYNYLDWYLQKPGQSPQL⁷LISLGSIRASGV⁸PDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFG⁹C¹⁰GTKVDIT (SEQ ID NO:584) GB32 (VL-VH): EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSL¹¹LHSNAYNYLDWYLQKPGQSPQL¹²LISLGSIRASGV¹³PDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFG¹⁴C¹⁵GTKVDITGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSEVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFI¹⁶LSNYGMHWVRQAPGK¹⁷CLEWVAAMWYDGSNNYYEDSVKGRFTISRDN¹⁸SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERVS¹⁹RHFDWHYYYGMDVWGQGT²⁰TVTVSS (SEQ ID NO:585)	

[0197] Como alternativa, los nuevos sitios de unión a antígeno que pueden unirse a CEACAM5 pueden identificarse explorando la unión a la secuencia de aminoácidos definida por la SEQ ID NO:391, un fragmento extracelular maduro de la misma, o un fragmento que contiene un dominio de CEACAM5 (véanse, p. ej., las patentes de Estados Unidos n.º US9771431, US9617345 y US8470994, y las solicitudes de Estados Unidos n.º US15/683.087 y US14/515.765).

[0198] A continuación se proporciona una secuencia ilustrativa de una isoforma CEACAM5 humana y que puede obtenerse en la base de datos de GenBank con el número de registro NP_004354.

MESPSAPPHRWCI PWQRLLLTASLLTFWNPPTTAKLTIESTPFNVAEGKEVLLL VHNLPQ
HLFGYSWYKGERVDGNRQIIIGYVIGTQQATPGPAYSGREIIPNASLLIQNIIQNDTG FYT
LHVIKSDLVNEEATGQFRVYPELPKPSISSNNSKPVEDKDAVAFTCEPETQDATYLWWV
NNQSLPVS PRLQLSNGNRTLTLFNVTRNDTASYKCETQNPVSARRSDSVILNVLYGPDAP
TISPLNTSYRSGENLNLSCHAASNPPAQYSWVFN¹GT²FQQSTQELFIPNITVNNSGSYTCQA
HNSDTGLNRTTVTTITVYAEPPKPFITSNNSNPVEDEDAVA³LTCEPEIQNTTYLWWVNNQ
SLPVS PRLQLSNDNRTLTL⁴LSVTRNDVGPYECGIQNELSVDHSDPVILNVLYGPDDPTISP
SYTYRPGVNL⁵LSCHAASNPPAQYSWLIDGNIQQHTQELFISNITEKNSGLYTCQANNS
ASGHSRTTVKTITVSAELPKPSISSNNSKPVEDKDAVAFTCEPEAQNTTYLWWVNGQSLP

VSPRLQLSNGNRTLTLFNVTRNDARAYVCGIQNSVSANRSDPVTLDVLYGPDTPHISPPDS
 SYLSGANLNLSCHSASNPSPQYSWRINGIPQQHTQVLFIKITPNNNGTYACFVSNLATG
 RNNIVKSITVSASGTSPGLSAGATVGIMIGVLVGVALI (SEQ ID NO:391)

[0199] En determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5 (p. ej., CEACAM5 de ser humano, p. ej., CEACAM5 de macaco *cynomolgus*) comprende un dominio variable de cadena pesada (VH) que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica al VH de un sitio de unión a antígeno desvelado en la Tabla 2, y un dominio variable de cadena ligera (VL) que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la VL del mismo sitio de unión a antígeno desvelado en la Tabla 2. En determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada y la CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena ligera, determinado según Kabat (véase Kabat *et al.*, (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, publicación del NIH N.º 91-3242, Bethesda), Chothia (véase, p. ej., Chothia C y Lesk A M, (1987), *J Mol Biol* 196: 901-917), MacCallum (véase MacCallum R M *et al.*, (1996) *J Mol Biol* 262: 732-745), o cualquier otro método de determinación de CDR conocido en la técnica, de las secuencias de VH y VL de un sitio de unión a antígeno desvelado en la Tabla 2. En determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno comprende las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada y las secuencias de CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena ligera de un sitio de unión a antígeno desvelado en la Tabla 2.

[0200] En determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno está relacionado con un scFv de la Tabla 2. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno comprende una secuencia de VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de un VH de la Tabla 2. En determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno comprende una secuencia de VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de un VL de la Tabla 2. En determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno comprende una secuencia de VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos

94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de un VH de la Tabla 2, y una secuencia de VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a una secuencia de aminoácidos de un VL de la Tabla 2, en donde el VH y VL de la Tabla 2 se seleccionan de un par de secuencias análogas.

[0201] En determinadas realizaciones, el VH comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 seleccionadas de un par de secuencias análogas enumeradas en la Tabla 2. En determinadas realizaciones, el VL comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 seleccionadas de un par de secuencias análogas enumeradas en la Tabla 2. En determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno comprende (a) un VH que comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de una secuencia de VH enumerada en la Tabla 2; y (b) un VL que comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de una secuencia de VL enumerada en la Tabla 2, en donde las secuencias de VH y VL se seleccionan de un par de secuencias análogas enumeradas en la Tabla 2.

[0202] Como se usa en el presente documento, la expresión "par análogo" se refiere a un VH y un VL que forman un sitio de unión a antígeno. En algunas realizaciones, "par análogo" se refiere a un emparejamiento entre VH y VL como se muestra en la Tabla 2. En algunas realizaciones, "par análogo" se refiere a un emparejamiento entre VH y VL como se muestra en la Tabla 3.

[0203] Como se utiliza en la Tabla 2, cuando el término "procede" se aplica a un VH, a un VL o a una CDR, se refiere a una secuencia de aminoácidos que tiene mutaciones adicionales (p. ej., sustituciones, deleciones, etc.) en relación con la secuencia de referencia. Por ejemplo, el VH del par análogo A1 (SEQ ID NO:567) de la Tabla 2 procedía del VH de PH_420-CEACAM5 (que se muestra en la Tabla 3). En relación con el VH de PH_420-CEACAM5, SEQ ID NO:567 tiene una mutación de cisteína. El VL del par análogo A1 (SEQ ID NO:568) de la Tabla 2 procedía del VL de PH_420-CEACAM5 (que se muestra en la Tabla 3). En relación con el VL de PH_420-CEACAM5, la SEQ ID NO:568 tiene una mutación de cisteína.

[0204] Como se utiliza en la Tabla 2, cuando el término "procede" se aplica a un scFv se refiere a una secuencia de aminoácidos que tiene mutaciones adicionales y/o una secuencia enlazadora. Por ejemplo, scFv para GB1 procede del par análogo A1 de la Tabla 2 y comprende las secuencias de VH y VL del par análogo A1 de la tabla 2, así como una secuencia enlazadora (p. ej., la secuencia enlazadora (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532)).

[0205] La Tabla 3 enumera secuencias ilustrativas de dominios variables de cadena pesada y dominios variables de cadena ligera que, en combinación, p. ej., como un par análogo, pueden

unirse a CEACAM5. Las secuencias de CDR se identifican con la numeración de Chothia y Kabat como se indica.

Tabla 3. Secuencias de sitios de unión a antígeno ilustrativas que se unen a CEACAM5

Par análogo	Clones y Variantes	VH	VL
Nivel 1			
1.	Clon PH_420- CEACAM5	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRDI QMTQSPSSQAPGKGLEWVSA IFNSGGSTYYADSVKGRFTVS RDNSKNTLYLQMNSLRAEDT ALYYCAKDLGGYNYGLFDY WGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:1) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNSGGS (SEQ ID NO:4) (Chothia) o AIFNSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:5) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	DIRMTQSPSTLSASVGDRVITC WASQSISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYKASSLESQVPSRFSGSGSGT EFTLTISLQPDDFATYYCQQYN SYSYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:10) CDR1: WASQSISSWLA (SEQ ID NO:7) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSYT (SEQ ID NO:9)
	PH_420- CEACAM5 _VH_ Variante 1 (QE)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNSGGSTYY ADSVKGRFTVSRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTALYYCAKDL GGYNYGLFDYWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:11) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNSGGS (SEQ ID NO:4) (Chothia) o AIFNSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:5) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	

	PH_420- CEACAM5 _ VH_ Variante 2 (QE, SA)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNAGGSTYY ADSVKGRFTVSRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTALYYCAKDL GGYNYGLFDYWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:12) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3)(Kabat) CDR2: FNAGGS (SEQ ID NO:13) (Chothia) o AIFNAGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:14) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	
	PH_420- CEACAM5 _ VH_ Variante 3 (QE, SA)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNSGGSTYY ADAVKGRFTVSRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTALYYCAKDL GGYNYGLFDYWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:15) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNSGGS (SEQ ID NO:4) (Chothia) o AIFNSGGSTYYADAVKG (SEQ ID NO:16) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	
	PH_420- CEACAM5 _ VH_ Variante 4(QE, SA)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNSGGSTYY ADSVKGRFTVSRDNAKNTLY LQMNSLRAEDTALYYCAKDL GGYNYGLFDYWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:17) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ	

		ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNSGGS (SEQ ID NO:4) (Chothia) o AIFNSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:5) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	
	PH_420-CEACAM5_VH_Variante 5 (QE, NQ)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNSGGSTYY ADSVKGRFTVSRDNSKQTLY LQMNSLRAEDTALYYCAKDL GGYNYGLFDYWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:18) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNSGGS (SEQ ID NO:4) (Chothia) o AIFNSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:5) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	
	PH_420-CEACAM5_VH_Variante 6 (QE, NQ)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNSGGSTYY ADSVKGRFTVSRDNSKNTLY LQMQLRAEDTALYYCAKDL GGYNYGLFDYWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:19) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNSGGS (SEQ ID NO:4) (Chothia) o AIFNSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:5) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	

	PH_420- CEACAM5 _ VH_ Variante 7 (QE, SA,SA)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNAGGSTYY ADAVKGRFTVSRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTALYYCAKDL GGYNYGLFDYWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:20) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNAGGS (SEQ ID NO:13) (Chothia) o AIFNAGGSTYYADAVKG (SEQ ID NO:21) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	
	PH_420- CEACAM5 _ VH_ Variante 8 (QA, SA, SA, SA)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNAGGSTYY ADAVKGRFTVSRDNAKNTLY LQMNSLRAEDTALYYCAKDL GGYNYGLFDYWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:22) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNAGGS (SEQ ID NO:13) (Chothia) o AIFNAGGSTYYADAVKG (SEQ ID NO:21) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	
	PH_420- CEACAM5 _ VH_ Variante 9 (QE, SA, SA, SA, NQ)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNAGGSTYY ADAVKGRFTVSRDNAKQTLTY LQMNSLRAEDTALYYCAKDL GGYNYGLFDYWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:23) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ	

		ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNAGGS (SEQ ID NO:13) (Chothia) o AIFNAGGSTYYADAVKG (SEQ ID NO:21) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	
	PH_420-CEACAM5_VH_Variante 10 (QE, SA, SA, SA, NQ, NQ)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNAGGSTYY ADAVKGRFTVSRDNAKQTLY LQMQLRAEDTALYYCAKDL GGNYNYGLFDYWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:24) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNAGGS (SEQ ID NO:13) (Chothia) o AIFNAGGSTYYADAVKG (SEQ ID NO:21) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	
	PH_420-CEACAM5_VL_Variante 1 (DN)		DIRMTQSPSTLSASVGDRVTITC WASQSISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYKASSLESQVPSRFSGSGSGT EFTLTISLQPDNFATYYCQQYN SYSYTFGQGQTKLEIK (SEQ ID NO:25) CDR1: WASQSISSWLA (SEQ ID NO:7) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSYT (SEQ ID NO:9)
	PH_420-CEACAM5_VL_Variante 2 (SA)		DIRMTQSPSTLSASVGDRVTITC WASQSISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYKASSLESQVPSRFSGSGSGT EFTLTISLQPDNFATYYCQQYN AYSYTFGQGQTKLEIK (SEQ ID NO:26)

			CDR1: WASQSISSWLA (SEQ ID NO:7) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNAYSYT (SEQ ID NO:27)
	PH_420-CEACAM5_VL_Variante 3 (DN, SA)		DIRMTQSPSTLSASVGDRVITTC WASQSISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGT EFTLTISLQPDNFATYYCQQYN AYSYTFGQGGTKLEIK (SEQ ID NO:28) CDR1: WASQSISSWLA (SEQ ID NO:7) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNAYSYT (SEQ ID NO:27)
	PH_420-CEACAM5_VL_Variante 4 (R(L3)Q)		DIQMTQSPSTLSASVGDRVITTC WASQSISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGT EFTLTISLQPDDEFATYYCQQYN SYSYTFGQGGTKLEIK (SEQ ID NO:637) CDR1: WASQSISSWLA (SEQ ID NO:7) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSYT (SEQ ID NO:9)
2.	Clon PH_420-CEACAM5 y secuencia consenso de las variantes	X₁VQLVQSGGGLVQPGGSLR LSCAASGFTFSSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAIFNX₂GGSTY YADX₃VKGRFTVSRDNX₄KX₅ TLYLQMX₆SLRAEDTALYYC AKDLGGYNYGLFDYWGGGT LTVVSS donde X₁ es E o Q, X₂ es S o A, X₃ es S o A, X₄ es S o A, X₅ es N o Q, y X₆ es N o Q (SEQ ID NO:29)	DIX₁MTQSPSTLSASVGDRVITTC WASQSISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGT EFTLTISLQPD_{X₂}FATYYCQQYN X₃YSYTFGQGGTKLEIK donde X₁ es R o Q, X₂ es N o D, y X₃ es S o A (SEQ ID NO:32) CDR1: WASQSISSWLA (SEQ ID

		CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNX₁GGS (SEQ ID NO:30) (Chothia) o AIFNX₁GGSTYYADX₂VKG (SEQ ID NO:31) (Kabat) donde X₁ es S o A y X₂ es S o A CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	NO:7) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNXYSYT donde X es S o A (SEQ ID NO:33)
3.	Clon 1078_C04C EACAM5_VH	QVQLVQSGGGLVQPGGSQRL SCAASGFTFTSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGTGDSTFYA DSVKGRFTFSRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKDL GWLQYGLFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:34) CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGDS (SEQ ID NO:36) (Chothia) o AISGTGDSTFYADSVKG (SEQ ID NO:37) (Kabat) CDR3: DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38)	DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCR ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYN NWPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:39) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)
4.	1078_C04C EACAM5_VH_Variante 1 (QE)	EVQLVQSGGGLVQPGGSQRL SCAASGFTFTSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGTGDSTFYA DSVKGRFTFSRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKDL GWLQYGLFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:43) CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGDS (SEQ ID NO:36) (Chothia) o AISGTGDSTFYADSVKG (SEQ ID NO:37) (Kabat)	DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCR ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYN NWPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:39) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)

		CDR3: DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38)	
5.	1078_C04C EACAM5_ VH_ Variante 2 (QE, DE)	EVQLVQSGGGLVQPGGSQRL SCAASGFTFTSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGTGESTFYA DSVKGRFTFSRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKDL GWLQYGLFDYWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO:44) CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGES (SEQ ID NO:45) (Chothia) o AISGTGESTFYADSVKG (SEQ ID NO:46) (Kabat) CDR3: DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38)	DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCR ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYN NWPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:39) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)
6.	1078_C04C EACAM5_ VH_ Variante 3 (QE, SA)	EVQLVQSGGGLVQPGGSQRL SCAASGFTFTSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGTGDSTFYA DAVKGRFTFSRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKDL GWLQYGLFDYWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO:47) CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGDS (SEQ ID NO:36) (Chothia) o AISGTGDSTFYADAVKG (SEQ ID NO:48) (Kabat) CDR3: DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38)	DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCR ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYN NWPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:39) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)
7.	1078_C04C EACAM5_ VH_ Variante 4 (QE, DE)	EVQLVQSGGGLVQPGGSQRL SCAASGFTFTSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGTGDSTFYA DSVKGRFTFSRENSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKDLG WLQYGLFDYWGQGTLVTVS S (SEQ ID NO:49)	DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCR ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYN NWPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:39) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID

		CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGDS (SEQ ID NO:36) (Chothia) o AISGTGDSTFYADSVKG (SEQ ID NO:37) (Kabat) CDR3: DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38)	NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)
8.	1078_C04C EACAM5_ VH_ Variante 5 (QE, SA)	QVQLVQSGGGLVQPGGSQRL SCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGTGDSTFYADSVKGRFTFSRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGWLQYGLFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:50) CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGDS (SEQ ID NO:36) (Chothia) o AISGTGDSTFYADSVKG (SEQ ID NO:37) (Kabat) CDR3: DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38)	DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCR ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYN NWPLTFGGGGTKVEIK (SEQ ID NO:39) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)
9.	1078_C04C EACAM5_ VH_ Variante 6 (QE, SA)	EVQLVQSGGGLVQPGGSQRL SCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGTGDSTFYADSVKGRFTFSRDNSKNTLYLQMNALRAEDTAVYYCAKDLGWLQYGLFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:51) CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGDS (SEQ ID NO:36) (Chothia) o AISGTGDSTFYADSVKG (SEQ ID NO:37) (Kabat) CDR3: DLGWLQYGLFDY	DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCR ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYN NWPLTFGGGGTKVEIK (SEQ ID NO:39) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)

		(SEQ ID NO:38)	
10.	1078_C04C EACAM5_ VH_ Variante 7 (Q(H18)L)	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFTSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGTGDSTFYA DSVKGRFTFSRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKDL GWLQYGLFDYWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO:638) CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGDS (SEQ ID NO:36) (Chothia) o AISGTGDSTFYADSVKG (SEQ ID NO:37) (Kabat) CDR3: DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38)	DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCR ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYN NWPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:39) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)
11.	1078_C04C EACAM5 y Variantes Secuencia Consenso	X₁VQLVQSGGGLVQPGGSX₂R LSCAASGFTFTSYAMSWVRQ APGKGLEWVSAISGTGX₃STF YADX₄VKGRFTFSRX₅NX₆KN TLYLQMNX₇LRAEDTAVYYC AKDLGWLQYGLFDYWGQGT LTVSS donde X₁ es E o Q, X₂ es Q o L, X₃ es D o E, X₄ es S o A, X₅ es D o E, X₆ es S o A, y X₇ es S o A (SEQ ID NO:52) CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGX₁S (SEQ ID NO:53) (Chothia) o AISGTGX₁STFYADX₂VKG (SEQ ID NO:54) (Kabat) donde X₁ es D o E y X₂ es S o A CDR3: DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38)	DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCR ASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYN NWPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:39) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)
12.	Clon 1079_H05C EACAM5_	QVQLQESGPGLV RPSGTLST CAVSGGSISSPTWWSWVRQP PGKGLEWIGEIHPSGRNTNYP	DIVMTQTPATLSASVGDRVTITC RASQSVRSNLAWYQQKPGQAPR LLIYGASTRATGIPARFSGSGSGT

	VH	SLKSRVTISVDKSKNQFSLKL GSVTAADTAVYYCAREGFYY GSGNYYYYFDYWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:55) CDR1: GGSISSPT (SEQ ID NO:56) (Chothia) o SPTWWS (SEQ ID NO:57) (Kabat) CDR2: HPSGR (SEQ ID NO:58) (Chothia) o EIHPGRTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:59) (Kabat) CDR3: EGFYYGSGNYYYYFDY (SEQ ID NO:60)	EFTLTISLQSEDAVYYCQQYN NWPTFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:61) CDR1: RASQSVRSNLA (SEQ ID NO:62) CDR2: GASTRAT (SEQ ID NO:63) CDR3: QQYNNWPT (SEQ ID NO:64)
13.	1079_H05C EACAM5_ VH _Variante 1 (QE)	EVQLQESGPGLVPSGTLST CAVSGGSISSPTWWSWVRQP PGKGLEWIGIEIHPGRTNYPN SLKSRVTISVDKSKNQFSLKL GSVTAADTAVYYCAREGFYY GSGNYYYYFDYWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:65) CDR1: GGSISSPT (SEQ ID NO:56) (Chothia) o SPTWWS (SEQ ID NO:57) (Kabat) CDR2: HPSGR (SEQ ID NO:58) (Chothia) o EIHPGRTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:59) (Kabat) CDR3: EGFYYGSGNYYYYFDY (SEQ ID NO:60)	DIVMTQTPATLSASVGDRVTITC RASQSVRSNLAWYQQKPGQAPR LLIYGASTRATGIPARFSGSGSGT EFTLTISLQSEDAVYYCQQYN NWPTFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:61) CDR1: RASQSVRSNLA (SEQ ID NO:62) CDR2: GASTRAT (SEQ ID NO:63) CDR3: QQYNNWPT (SEQ ID NO:64)
14.	1079_H05- CEACAM5 y Variantes Secuencia Consenso	XVQLQESGPGLVPSGTLST CAVSGGSISSPTWWSWVRQP PGKGLEWIGIEIHPGRTNYPN SLKSRVTISVDKSKNQFSLKL GSVTAADTAVYYCAREGFYY GSGNYYYYFDYWGQGTLLTV SS donde X es Q o E (SEQ ID NO:66) CDR1: GGSISSPT (SEQ ID NO:56) (Chothia) o SPTWWS	DIVMTQTPATLSASVGDRVTITC RASQSVRSNLAWYQQKPGQAPR LLIYGASTRATGIPARFSGSGSGT EFTLTISLQSEDAVYYCQQYN NWPTFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:61) CDR1: RASQSVRSNLA (SEQ ID NO:62) CDR2: GASTRAT (SEQ ID NO:63) CDR3: QQYNNWPT (SEQ ID NO:64)

		(SEQ ID NO:57) (Kabat) CDR2: HPSGR (SEQ ID NO:58) (Chothia) o EIHPSGRTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:59) (Kabat) CDR3: EGFYYGSGNYYYFDY (SEQ ID NO:60)	
15.	7A10.A7-CEACAM5-B.01	QVQLVESGGDVVQPGRSLRL SCAASGFILSNYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVSRHFDWHYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:67) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	EIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCR SSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPG QSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGS GSGTNFTLTISRVEAEDVGFYYC MQALQTPRTFGQGTKVDIT (SEQ ID NO:73) CDR1: RSSQSLHLSNGYNYLD (SEQ ID NO:74) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
	7A10.A7-CEACAM5-B.01_VH_Variante 1_(QE)	EVQLVESGGDVVQPGRSLRL SCAASGFILSNYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVSRHFDWHYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:77) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV	

		(SEQ ID NO:72)	
	7A10.A7- CEACAM5 -B.01_ VH _Variante 2_(QE, ST)	EVQLVESGGDVVQPGRSLRL SCAASGFILSNYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDTVKGRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVS RHF DWHY YYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:78) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDTVKG (SEQ ID NO:79) (Kabat) CDR3: ERVS RHF DWHY YYGMDV (SEQ ID NO:72)	
	7A10.A7- CEACAM5 -B.01_ VH _Variante 3_(QE, NQ)	EVQLVESGGDVVQPGRSLRL SCAASGFILSNYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISR DQSKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVS RHF DWHY YYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:80) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVS RHF DWHY YYGMDV (SEQ ID NO:72)	
	7A10.A7- CEACAM5 -B.01_ VH _Variante 4_(QE, NQ)	EVQLVESGGDVVQPGRSLRL SCAASGFILSNYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISR DN SKQTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVS RHF DWHY YYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:81)	

		CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	
	7A10.A7-CEACAM5-B.01_VH_Variante 5_(QE, NQ)	QVQLVESGGDVVQPGSLRL SCAASGFILSNYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISRDNSKNTL YLQMQLRAEDTAVYYCARE RVSRLHFDWHYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:82) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	
	7A10.A7-CEACAM5-B.01_VH_Variante 6_(QE,ST, NQ, NQ, NQ)	EVQLVESGGDVVQPGSLRL SCAASGFILSNYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDTVKGRFTISRDQSKQTL YLQMQLRAEDTAVYYCARE RVSRLHFDWHYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:83) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDTVKG	

		(SEQ ID NO:79) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	
	7A10.A7- CEACAM5 -B.01- N(L70)D VL		EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCR SSQSLHLSNGYNYLDWYLYQKPG QSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGS GSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYC MQALQTPRTFGQGTKVDIT (SEQ ID NO:84) CDR1: RSSQSLHLSNGYNYLD (SEQ ID NO:74) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
	7A10.A7- CEACAM5 -B.01- N(L70)Q VL		EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCR SSQSLHLSNGYNYLDWYLYQKPG QSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGS GSGTQFTLTISRVEAEDVGFYYC MQALQTPRTFGQGTKVDIT (SEQ ID NO:85) CDR1: RSSQSLHLSNGYNYLD (SEQ ID NO:74) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
	7A10.A7- CEACAM5 -B.01 _VL _Variante 1_(TA)		EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCR SSQSLHLSNGYNYLDWYLYQKPG QSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGS GSGTNFALTISRVEAEDVGFYYC MQALQTPRTFGQGTKVDIT (SEQ ID NO:86) CDR1: RSSQSLHLSNGYNYLD (SEQ ID NO:74) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)

16.	7A10.A7- CEACAM5 -B.01 y Variantes Secuencia Consenso	X₁VQLVESGGDVVQPGRSRLR SCAASGFILSNYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDX₂VKGRFTISRDX₃SKX₄ TLYLQMX₅SLRAEDTAVYYC ARERSRHFDFWHYYYGMDV WGQGTTVTVSS donde X₁ es E o Q, X₂ es S o T, X₃ es N o Q, X₄ es N o Q, y X₅ es N o Q (SEQ ID NO:87) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDXVKG (Kabat) donde X es S o T (SEQ ID NO:88) CDR3: ERSRHFDFWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	EIVMTQSPLSLPVTTPGEPASISCR SSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPG QSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGS GSGTX₁FX₂LTISRVEAEDVGFYY CMQALQTPRTFGQGGTKVDIT donde X₁ es N, D o Q y X₂ es T o A (SEQ ID NO:89) CDR1: RSSQSLHLSNGYNYLD (SEQ ID NO:74) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
	7A10.A7- CEACAM5 -B.01- N(L70)D,N (L28)S VL		EIVMTQSPLSLPVTTPGEPASISCR SSQSLHSSGYNYLDWYLQKPG QSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGS GSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYC MQALQTPRTFGQGGTKVDIT (SEQ ID NO:631) CDR1: RSSQSLHSSGYNYLD (SEQ ID NO:632) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
	7A10.A7- CEACAM5 -B.01- N(L70)D,N (L28)Q VL		EIVMTQSPLSLPVTTPGEPASISCR SSQSLHLSQGYNYLDWYLQKPG QSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGS GSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYC MQALQTPRTFGQGGTKVDIT (SEQ ID NO:633) CDR1: RSSQSLHLSQGYNYLD

			(SEQ ID NO:634) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
	7A10.A7- CEACAM5 -B.01- N(L70)D,G (L29)A VL		EIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCR SSQSLHLSNAYNYLDWYLQKPG QSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGS GSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYC MQALQTPRTFGQGTKVDIT (SEQ ID NO:635) CDR1: RSSQSLHLSNAYNYLD (SEQ ID NO:636) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
17.	8H2.B10- CEACAM5 -B.01	QVQLVESGGDVVQPGRLRL SCAASGFTLSSYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVSRLHFDWHYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:90) CDR1: GFTLSSY (SEQ ID NO:91) (Chothia) o SYGMH (SEQ ID NO:92) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRLHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	EIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCR SSQSLHYNGYNYLDWYLQKPG QSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGS GSGTNFTLTISRVEAEDVGFYYC MQALQTPRTFGQGTKVDIT (SEQ ID NO:93) CDR1: RSSQSLHYNGYNYLD (SEQ ID NO:94) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
	8H2.B10- CEACAM5 -B.01- N(L70)D VL		EIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCR SSQSLHYNGYNYLDWYLQKPG QSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGS GSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYC MQALQTPRTFGQGTKVDIT (SEQ ID NO:95)

			CDR1: RSSQSLLHYNGYNYLD (SEQ ID NO:94) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
	8H2.B10-CEACAM5-B.01-N(L70)QVL		EIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLHYNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGSGSGTQFTLTISRVEAEDVGFYYC MQALQTPRTFGQGTKVDIT (SEQ ID NO:96) CDR1: RSSQSLLHYNGYNYLD (SEQ ID NO:94) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
	8H2.B10-CEACAM5-B.01-T(L72)AVL		EIVMTQSPLSLPVTGPASISCRSSQSLLHYNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGSGSGTNFALTISRVEAEDVGFYYC MQALQTPRTFGQGTKVDIT (SEQ ID NO:97) CDR1: RSSQSLLHYNGYNYLD (SEQ ID NO:94) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
	VH_8H2.B10-CEACAM5-B.01(QH1E)	EVQLVESGGDVVQPGRSRLSCAASGFTLSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAAMWYDGSNNYYEDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREVSRHFDWHYYYGMDVWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO:332) CDR1: GFTLSSY (SEQ ID NO:91) (Chothia) o SYGMH	

		(SEQ ID NO:92) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	
	VH_8H2.B10-CEACAM5-B.01 (SH62T)	QVQLVESGGDVVQPGRSLRL SCAASGFTLSSYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDTVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVSRRHFDWHYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:333) CDR1: GFTLSSY (SEQ ID NO:91) (Chothia) o SYGMH (SEQ ID NO:92) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDTVKG (SEQ ID NO:79) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	
	VH_8H2.B10-CEACAM5-B.01 (NH73Q)	QVQLVESGGDVVQPGRSLRL SCAASGFTLSSYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISRQSKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVSRRHFDWHYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:334) CDR1: GFTLSSY (SEQ ID NO:91) (Chothia) o SYGMH (SEQ ID NO:92) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV	

		(SEQ ID NO:72)	
	VH_8H2.B10-CEACAM5-B.01 (NH76Q)	QVQLVESGGDVVQPGRSRLR SCAASGFTLSSYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISRDNQKTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVSRRHFDWHYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:335) CDR1: GFTLSSY (SEQ ID NO:91) (Chothia) o SYGMH (SEQ ID NO:92) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	
	VH_8H2.B10-CEACAM5-B.01 (NH82AQ)	QVQLVESGGDVVQPGRSRLR SCAASGFTLSSYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISRDNQKTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVSRRHFDWHYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:336) CDR1: GFTLSSY (SEQ ID NO:91) (Chothia) o SYGMH (SEQ ID NO:92) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	
18.	8H2.B10-CEACAM5-B.01 y Variantes Secuencia Consenso	X₁VQLVESGGDVVQPGRSRLR SCAASGFTLSSYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDX₂VKGRFTISRDX₃SKX₄ TLYLQMX₅SLRAEDTAVYYC ARERSRRHFDWHYYYGMDV WGQGTTVTVSS	EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCR SSQSLHLYNGYNYLDWYLQKPG QSPQLLISLGSIRASGVPDRFSGS GSGTX₁FX₂LTISRVEAEDVGFYY CMQALQTPRTFGQGTKVDIT donde X₁ es N, D o Q y X₂ es A o T

		donde X_1 es E o Q, X_2 es S o T, X_3 es N o Q, X_4 es N o Q, y X_5 es N o Q (SEQ ID NO:98) CDR1: GFTLSSY (SEQ ID NO:91) (Chothia) o SYGMH (SEQ ID NO:92) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDXVKG (SEQ ID NO:88) (Kabat) donde X es S o T CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	(SEQ ID NO:99) CDR1: RSSQSLHYNGYNYLD (SEQ ID NO:94) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
19.	16F6.A2-CEACAM5-B.02 (VH Variante 1) de murino	EVQLQQSAAELARPGASVKMSCKASGYTFTAYTIHWVKRPGQGLEWIGYINPSSGYTEYNQKFKDKTTLTADQSSPTAYIQ LSTLTSEDSAVYYCTREGGLLWFDYWGQGTTTLTVST (SEQ ID NO:100) CDR1: GYTFTAY (SEQ ID NO:101) (Chothia) o AYTIH (SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID NO: 105)	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSC KSSHSLLYGNFQNNYLAWYQQ KPGQSPKLLIWASTRESGVDPDR FTGSGSGTDFTLTISSVKAEDLA VYYCQQYYSYPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:106) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) CDR3: QQYYSYPYT (SEQ ID NO:109)
20.	16F6.A2-CEACAM5-B.02 (VH Variante 2) de murino	QVQLQQSAAELARPGASVKMSCKASGYTFTAYTIHWVKRPGQGLEWIGYINPSSGYTEYNQKFKDKTTLTADQSSPTAYIQ LSTLTSEDSAVYYCTREGGLLWFDYWGQGTTTLTVST (SEQ ID NO:110) CDR1: GYTFTAY (SEQ ID NO:101) (Chothia) o AYTIH	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSC KSSHSLLYGNFQNNYLAWYQQ KPGQSPKLLIWASTRESGVDPDR FTGSGSGTDFTLTISSVKAEDLA VYYCQQYYSYPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:106) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID

		(SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID NO: 105)	NO:108) CDR3: QQYYSSYPYT (SEQ ID NO:109)
21.	16F6.A2-CEACAM5-B.02 de murino Secuencia Consenso	XVQLQQSAAELARPGASVKMSCKASGYTFTAYTIHWVKRPGQGLEWIGYINPSSGYTEYNQKFKDKTTLTADQSSPTAYIQ LSTLTSEDSAVYYCTREGGLLWFDYWGQGTTLTVST donde X es E o Q (SEQ ID NO:111) CDR1: GYTFTAY (SEQ ID NO:101) (Chothia) o AYTIH (SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID NO: 105)	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSC KSSHSLLYGNFQNNYLAWYQQ KPGQSPKLLIYWASTRESGVPDR FTGSGSGTDFTLTISSVKAEDLA VYYCQQYYSSYPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:106) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) CDR3: QQYYSSYPYT (SEQ ID NO:109)
22.	16F6.A2-CEACAM5-B.02-BM-H1-VH humanizada y 16F6.A2-CEACAM5-B.02-BM-L1-VL humanizada	QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTAYTIHWVRQAPGQGLEWIGYINPSSGYTEYNQKFKDRTTLTADTSIPTAYMELSRRLSDDTAVYYCTREGGLLWFDYWGQGTTLTVVSS (SEQ ID NO:112) CDR1: GYTFTAY (SEQ ID NO:101) (Chothia) o AYTIH (SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSHSLLYGNFQNNYLAWYQQ KPGQPPKLLIYWASTRESGVPDR FSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQYYSSYPYTFGGGTKLEIK (SEQ ID NO:119) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) CDR3: QQYYSSYPYT (SEQ ID NO:109)

		NO:105)	
23.	16F6.A2-CEACAM5-B.02-BM-H2-VH humanizada y 16F6.A2-CEACAM5-B.02-BM-L1-VL humanizada	QVQLVQSGAEVKKPGASVK MSCKASGYTFTAYTIHWVRQ APGQGLEWIGYINPSSGYTEY NQKFKDRTTLTADTSIPTAYI ELSRLRSDDTAVYYCTREGG LLWFDYWGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO:113) CDR1: GYTFTAY (SEQ ID NO:101) (Chothia) o AYTIH (SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID NO:105)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSHSLLYGNFQNNYLAWYQQ KPGQPPKLLIYWASTRESGVPDR FSGSGSGTDFTLTISLQAEDVA VYYCQQYYSYPYTFGGGKLEI K (SEQ ID NO:119) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) CDR3: QQYYSYPYT (SEQ ID NO:109)
24.	16F6.A2-CEACAM5-B.02-BM-H1-VH (humanizada)_ Variante 1(QE) y 16F6.A2-CEACAM5-B.02-BM-L1-VL humanizada	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTAYTIHWVRQA PGQGLEWMGYINPSSGYTEY NQKFKDRTTLTADTSIPTAYM ELSRLRSDDTAVYYCTREGG LLWFDYWGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO:114) CDR1: GYTFTAY (SEQ ID NO:101) (Chothia) o AYTIH (SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID NO:105)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSHSLLYGNFQNNYLAWYQQ KPGQPPKLLIYWASTRESGVPDR FSGSGSGTDFTLTISLQAEDVA VYYCQQYYSYPYTFGGGKLEI K (SEQ ID NO:119) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) CDR3: QQYYSYPYT (SEQ ID NO:109)
25.	16F6.A2-CEACAM5-B.02-BM-H1-VH (humanizada)_ Variante 2 (QE, DQ) y 16F6.A2-	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTAYTIHWVRQA PGQGLEWMGYINPSSGYTEY NQKFKDRTTLTADTSIPTAYM ELSRLRSQDTAVYYCTREGG LLWFDYWGQGTLLVTVSS (SEQ ID NO:115) CDR1: GYTFTAY (SEQ ID	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSHSLLYGNFQNNYLAWYQQ KPGQPPKLLIYWASTRESGVPDR FSGSGSGTDFTLTISLQAEDVA VYYCQQYYSYPYTFGGGKLEI K (SEQ ID NO:119) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA

	CEACAM5 -B.02-BM- L1-VL humanizada	NO:101) (Chothia) o AYTIH (SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID NO:105)	(SEQ ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) CDR3: QQYYSYPYT (SEQ ID NO:109)
26.	16F6.A2- CEACAM5 -B.02-BM- H2-VH (humanizada) _Variante 1 (QE) y 16F6.A2- CEACAM5 -B.02-BM- L1-VL humanizada	EVQLVQSGAEVKKPGASVK MSCKASGYTFTAYTIHWVRQ APGQGLEWIGYINPSSGYTEY NQKFKDRTTLTADTSIPTAYI ELSRLSDDTAVYYCTREGG LLWFDYWGGQTLVTVSS (SEQ ID NO:116) CDR1: GYTFTAY (SEQ ID NO:101) (Chothia) o AYTIH (SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID NO:105)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSHSLLYGNFQNNYLAWYQQ KPGQPPKLLIYWASTRESGVPDR FSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQYYSYPYTFGGGKLEI K (SEQ ID NO:119) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) CDR3: QQYYSYPYT (SEQ ID NO:109)
27.	16F6.A2- CEACAM5 -B.02-BM- H2-VH (humanizada) _Variante 2 (QH1E, DH85Q) y 16F6.A2- CEACAM5 -B.02-BM- L1-VL humanizada	EVQLVQSGAEVKKPGASVK MSCKASGYTFTAYTIHWVRQ APGQGLEWIGYINPSSGYTEY NQKFKDRTTLTADTSIPTAYI ELSRLSQDTAVYYCTREGG LLWFDYWGGQTLVTVSS (SEQ ID NO:117) CDR1: GYTFTAY (SEQ ID NO:101) (Chothia) o AYTIH (SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID NO:105)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSHSLLYGNFQNNYLAWYQQ KPGQPPKLLIYWASTRESGVPDR FSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVA VYYCQQYYSYPYTFGGGKLEI K (SEQ ID NO:119) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) CDR3: QQYYSYPYT (SEQ ID NO:109)

28.	16F6.A2-CEACAM5-B.02-BM humanizada y Variantes	X₁VQLVQSGAEVKKPGASVK X₂SCKASGYTFTAYTIHWVRQ APGQGLEWX₃GYINPSSGYTE YNQKFKDRITLTADTSIPTAY X₄ELSRLRSX₅DTAVYYCTRE GGLLWFDYWGGQGLTVTVSS Secuencia consenso donde X₁ es E o Q, X₂ es M o V, X₃ es I o M, X₄ es I o M, X₅ es D o Q (SEQ ID NO:118) CDR1: GYTFTAY (SEQ ID NO:101) (Chothia) o AYTIH (SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID NO:105)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINC KSSHSLLYGNFQNNYLAWYQQ KPGQPPKLLIWASTRESGVPR FSGSGSGTDFTLTISLQAEDVA VYYCQQYYSYPYTFGGGTKLEI K (SEQ ID NO:119) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) CDR3: QQYYSYPYT (SEQ ID NO:109)
Nivel 2			
29.	PH_415-CEACAM5	QVQLQESGPGLVKPSGTLST CAVSGGSISSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIIHSGSTNYP SLKSRVTISVDKSKNQFSLNL NSVTAADTAVYYCARGYSGS YFDLDIWGGQTTVTVSS (SEQ ID NO:120) CDR1: GGSISSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIIHSGSTNYPNLSLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	EIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQGISNYLAWYQQKPGKVPKL LIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPEDFATYYCQQLNS YPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:126) CDR1: RASQGISNYLA (SEQ ID NO:127) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNSYPLT (SEQ ID NO:129)
30.	PH_416-CEACAM5	QVQLQESGPGLVKPSGTLST CAVSGGSISSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIIHSGSTNYP SLKSRVTISVDKSKNQFSLNL NSVTAADTAVYYCARGYSGS YFDLDIWGGQTTVTVSS (SEQ ID NO:126)	EIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQGISNYLAWYQQKPGKVPKL LIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPEDFATYYCQQLNS YPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:126)

		ID NO:120) CDR1: GGSISSSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIYHSGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	CDR1: RASQGISNYLA (SEQ ID NO:127) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNSYPLT (SEQ ID NO:129)
31.	PH_418-CEACAM5	QVQLQESGPGLVKPSGTLST CAVSGGSISSSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIYHSGSTNYP SLKSRVTISVDKSKNQFSLNL NSVTAADTAVYYCARGYSGS YFDLDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:120) CDR1: GGSISSSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIYHSGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	DIRLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASQGISSYLA WYQQKPGKAPKL LIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FTLTISSLQPEDFATYYCQQLNS YPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:130) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNSYPFT (SEQ ID NO:132)
	PH_418-CEACAM5_VL Variante		DIRLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASQGISSYLA WYQQKPGKAPKL LIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FTLTISSLQPEDFATYYCQQLNA YPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:133) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNAYPFT (SEQ ID NO:134)
32.	PH_419-	QVQLVQSGPGLVKPSGTLST	DIVMTQSPSTLSASVGDRVTITC

	CEACAM5	CAVSGGSISSSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIIYHSGSTNYNP SLKSRVTISVDKSKNQFSLKL NSVTAADTAVYYCARGSSGS YFDLDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:135) CDR1: GGSISSSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIIYHSGSTNYNP SLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GSSGSYFDLDI (SEQ ID NO:337)	RASQGISSYLAWYQQKPGKAPK LLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGT EFTLTISLQPEDFATYYCQQLNS YPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:136) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNSYPLT (SEQ ID NO:129)
	VH PH_415- CEACAM5 (QH1E)	EVQLQESGPGLVKPSGTLST CAVSGGSISSSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIIYHSGSTNYNP SLKSRVTISVDKSKNQFSLNL NSVTAADTAVYYCARGYSGS YFDLDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:338) CDR1: GGSISSSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIIYHSGSTNYNP SLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	
	VH PH_415- CEACAM5 (SH82bA)	QVQLQESGPGLVKPSGTLST CAVSGGSISSSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIIYHSGSTNYNP SLKSRVTISVDKSKNQFSLNL NAVTAADTAVYYCARGYSG SYFDLDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:339) CDR1: GGSISSSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat)	

		CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 124).(Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	
	VL_PH_415_CEACAM5 (SL93A)		EIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQGISNYLAWYQQKPGKVPKL LIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FTLTISSLQPEDFATYYCQQLNAYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:340) CDR1: RASQGISNYLA (SEQ ID NO:127) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNAYPLT (SEQ ID NO:341)
	VH PH_416-CEACAM5 (SH82bA)	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTLCAVSGGSISSDWWTWVRQPPGKGLEWIGEIHSGSTNYPNPSLKSRTISVDKSKNQFSLNLNAVTAADTAVYYCARGYSYFDLDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:339) CDR1: GGSISSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	
	VL PH_416-CEACAM5 (SL93A)		EIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQGISNYLAWYQQKPGKVPKL LIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FTLTISSLQPEDFATYYCQQLNAYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:340)

			CDR1: RASQGISNYLA (SEQ ID NO:127) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNAYPLT (SEQ ID NO:341)
	VH_PH_418-CEACAM5 (SH82bA)	QVQLQESGPGGLVKPSGTLST CAVSGGSISSSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIIYHSGSTNYNP SLKSRVTISVDKSKNQFSLNL NAVTAADTAVYYCARGYSG SYFDLDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:339) CDR1: GGSISSSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIIYHSGSTNYNP SLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	
	VL PH_418-CEACAM5 (SL93A)		DIRLTQSPSFLSASVGDRVITCR ASQGISSYLAWYQQKPGKAPKL LIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPEDFATYYCQQLNA YPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:133) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNAYPFT (SEQ ID NO:134)
	VH_PH_419-CEACAM5 (QH1E)	EVQLVQSGPGLVKPSGTLST CAVSGGSISSSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIIYHSGSTNYNP SLKSRVTISVDKSKNQFSLKL NSVTAADTAVYYCARGSSGS	

		YFDLDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:342) CDR1: GGSISSSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIYHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GSSGSYFDLDI (SEQ ID NO:337)	
	VH_PH_419-CEACAM5 (SH82bA)	QVQLVQSGPGLVKPSGTLSTCAVSGGISSSDWWTWVRQPPGKGLEWIGEIYHSGSTNYPNPSLKSRTISVDKSKNQFSLKLNAVTAADTAVYYCARGSSGSYFDLDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:343) CDR1: GGSISSSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIYHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GSSGSYFDLDI (SEQ ID NO:337)	
	VL PH_419-CEACAM5 (SL93A)		DIVMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNAYPLTFGGGGTKVEIK (SEQ ID NO:344) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNAYPLT (SEQ ID NO:341)

33.	Secuencias de consenso de VH [PH_415-CEACAM5; PH_416-CEACAM5; PH_419-CEACAM5; PH_418-CEACAM5] y Secuencias consenso de VL [PH_415-CEACAM5 PH_416-CEACAM5 PH_419-CEACAM5]	X₁VQLX₂X₃SGPGLVKPSGTL LTC AVSGGSISSSDWWTWVR QPPGKGLEWIGEIYHSGSTNY NPSLKSRVTISVDKSKNQFSL X₄LN X₅ VTAADTAVYYCARG X₆SGSYFDLDI WGQGTTVTVS S donde X₁ es E o Q, X₂ es Q o V, X₃ es E o Q, X₄ es K o N, X₅ es S o A, y X₆ es S o Y (SEQ ID NO:137) CDR1: GGSISSSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIYHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GXSGSYFDLDI donde X es S o Y (SEQ ID NO:138)	X₁IVMTQSPSX₂LSASVGDRVITITCRASQGIS X₃YLAWYQQKPGKX₄PKLLIYAA STLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTI SSLQPEDFATYYCQQLNX₅YPLT FGGGTKVEIK donde X₁ es E o D, X₂ es T o S, X₃ es N o S, X₄ es V o A, y X₅ es S o A (SEQ ID NO:139) CDR1: RASQGISXYLA donde X es N o S (SEQ ID NO:140) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNXYPLT donde X es S o A (SEQ ID NO:141)
34.	Secuencias Consenso de VH [PH_415-CEACAM5; PH_416-CEACAM5; PH_419-CEACAM5; PH_418-CEACAM5] y Secuencia de consenso de VL [PH_418-CEACAM5]	X₁VQLX₂X₃SGPGLVKPSGTL LTC AVSGGSISSSDWWTWVR QPPGKGLEWIGEIYHSGSTNY NPSLKSRVTISVDKSKNQFSL X₄LN X₅ VTAADTAVYYCARG X₆SGSYFDLDI WGQGTTVTVS S donde X₁ es Q o E, X₂ es Q o V, X₃ es E o Q, X₄ es K o N, X₅ es S o A, y X₆ es S o Y (SEQ ID NO:137) CDR1: GGSISSSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIYHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GXSGSYFDLDI donde X es S o Y (SEQ ID NO:138)	DIRLTQSPSFLSASVGDRVITITCRASQGISSYLA WYQQKPGKAPKLLIYA ASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLT ISLQPEDFATYYCQQLNX YPFTFGPGTKVDIK donde X es S o A (SEQ ID NO:142) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNXYPFT donde X es S o A (SEQ ID NO:143)
35.	PH_417-CEACAM5	QVQLQESGPGLVKPSGTL SLTCAVSGGSISSKWWVWRQS	DIQVTQSPATLSVSPGERVTLS CRASRSVRSNLAWYQQKPGQAPR

		PGKGLEWIGEIFHSGSINHNTS FKSRVTISVDKSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARGGSGSY DAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:144) CDR1: GGSISSSK (SEQ ID NO:145) (Chothia) o SSKWWS (SEQ ID NO:146) (Kabat) CDR2: FHSGS (SEQ ID NO:147) (Chothia) o EIFHSGSINHNTSFKS (SEQ ID NO:148) (Kabat) CDR3: GGSGSYDAFDI (SEQ ID NO:149)	LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISLQPDFAVYYCQQYN NWPITFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:150) CDR1: RASRSVRSNLA (SEQ ID NO:151) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPIT (SEQ ID NO:152)
	VH_PH_41 7- CEACAM5 (QH1E)	EVQLQESGPGLVKPSGTLST CAVSGGISSSSKWWSWVRQS PGKGLEWIGEIFHSGSINHNTS FKSRVTISVDKSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARGGSGSY DAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:345) CDR1: GGSISSSK (SEQ ID NO:145) (Chothia) o SSKWWS (SEQ ID NO:146) (Kabat) CDR2: FHSGS (SEQ ID NO:147) (Chothia) o EIFHSGSINHNTSFKS (SEQ ID NO:148) (Kabat) CDR3: GGSGSYDAFDI (SEQ ID NO:149)	
	VH_PH_41 7- CEACAM5 (NH60Q)	QVQLQESGPGLVKPSGTLST CAVSGGISSSSKWWSWVRQS PGKGLEWIGEIFHSGSINHNTS FKSRVTISVDKSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARGGSGSY DAFDIWGQGTMVTVSS (SEQ ID NO:346) CDR1: GGSISSSK (SEQ ID NO:145) (Chothia) o SSKWWS (SEQ ID NO:146) (Kabat) CDR2: FHSGS (SEQ ID	

		NO:147) (Chothia) o EIFHSGSINHQTSEFKS (SEQ ID NO:347) (Kabat) CDR3: GGSGSYDAFDI (SEQ ID NO:149)	
	VH_PH_41 7- CEACAM5 (SH62A)	QVQLQESGPGLVKPSGTLST CAVSGGSISSSKWWSWVRQS PGKGLEWIGEIFHSGSINHNT AFKSRVTISVDKSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARGGSGS YDAFDIWGQGTMTVSS (SEQ ID NO:348) CDR1: GGSISSSK (SEQ ID NO:145) (Chothia) o SSKWWS (SEQ ID NO:146) (Kabat) CDR2: FHSGS (SEQ ID NO:147) (Chothia) o EIFHSGSINHNTAFKS (SEQ ID NO:349) (Kabat) CDR3: GGSGSYDAFDI (SEQ ID NO:149)	
36.	PH_417- CEACAM5 Secuencia Consenso	X₁VQLQESGPGLVKPSGTLST TCAVSGGSISSSKWWSWVRQ SPGKGLEWIGEIFHSGSINH X₂ TX₃FKSRVTISVDKSKNQFSLK LSSVTAADTAVYYCARGGSG SYDAFDIWGQGTMTVSS donde X₁ es Q o E, X₂ es N o Q y X₃ es S o A (SEQ ID NO:153) CDR1: GGSISSSK (SEQ ID NO:145) (Chothia) o SSKWWS (SEQ ID NO:146) (Kabat) CDR2: FHSGS (SEQ ID NO:147) (Chothia) o EIFHSGSINH X₁TX₂FKS (Kabat) donde X₁ es N o Q y X₂ es S o A (SEQ ID NO:154) CDR3: GGSGSYDAFDI (SEQ ID NO:149)	DIQVTQSPATLSVSPGERVTLS RASRSVRSNLA WYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISLQPDFAVYYCQQYN NWPITFGQGTREIK (SEQ ID NO:150) CDR1: RASRSVRSNLA (SEQ ID NO:151) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPIT (SEQ ID NO:152)

37.	PH_421- CEACAM5	QVQLQESGPGLVKPSGTLST CAVSGGSISSSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIIYHSGSTNYNP SLKSRVTISVDKSKNQFSLNL NSVTAADTAVYYCARGYSGS YFDLDIWGQGTTVTVSSGS (SEQ ID NO:155) CDR1: GGSISSSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIIYHSGSTNYNP SLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	EIVLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASQGISSYLA WYQQKPGKAPKL LIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPEDFATYYCQQLNS YPFTFGPGTKLEIK (SEQ ID NO:156) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNSYPFT (SEQ ID NO:132)
	PH_421- CEACAM5 _VL Variante		EIVLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASQGISSYLA WYQQKPGKAPKL LIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPEDFATYYCQQLNA YPFTFGPGTKLEIK (SEQ ID NO:157) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNAYPFT (SEQ ID NO:134)
	VH_PH_42 1- CEACAM5 (QH1E)	EVQLQESGPGLVKPSGTLST CAVSGGSISSSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIIYHSGSTNYNP SLKSRVTISVDKSKNQFSLNL NSVTAADTAVYYCARGYSGS YFDLDIWGQGTTVTVSSGS (SEQ ID NO:350) CDR1: GGSISSSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIIYHSGSTNYNP SLKS (SEQ	

		ID NO:124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	
	VH_PH_42 1- CEACAM5 (SH82bA)	QVQLQESGPGLVKPSGTLST CAVSGGSISSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIIYHSGSTNYP SLKSRVTISVDKSKNQFSLNL NAVTAADTAVYYCARGYS SYFDLDIWGQGTTTVTVSSGS (SEQ ID NO:351) CDR1: GGSISSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIIYHSGSTNYP SLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	
38.	PH_421- CEACAM5 Secuencia Consenso	X ₁ VQLQESGPGLVKPSGTLST TCAVSGGSISSDWWTWVRQP PPGKGLEWIGEIIYHSGSTNYP PSLKSRVTISVDKSKNQFSLN LN _{X2} VTAADTAVYYCARGYS GSYFDLDIWGQGTTTVTVSSGS donde X ₁ es Q o E y X ₂ es S o A (SEQ ID NO:158) CDR1: GGSISSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIIYHSGSTNYP SLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	EIVLTQSPSFLSASVGDRVITTCR ASQGISSYLAWYQQKPGKAPKL LIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPEDFATYYCQQLNX YPFTFGPGTKLEIK donde X es S o A (SEQ ID NO:159) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNXYPFT donde X es S o A (SEQ ID NO:143)
39.	1078_G03- CEACAM5	QVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSYAMSWVRQA PGKGLEWVSEISGSGDRTSYA DSVKGRFTISRDN SKNRLYLQ	DIRMTQSPSTLSASVGDRVITTC RASQSISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYKASSLESQVPSRFSGSGSGT EFTLTISLQPD F ATYYCQQYN

		MNRLRTEDTAVYYCAKDLGP SGWYGLFDYWGQGLVTVS S (SEQ ID NO:160) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGDR (SEQ ID NO:161) (Chothia) o EISGSGDRTSYADSVKG (SEQ ID NO:162) (Kabat) CDR3: DLGPGWYGLFDY (SEQ ID NO:163)	SYSTWTFGQGTKVDIK (SEQ ID NO:164) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSTWT (SEQ ID NO:166)
	1078_G03- CEACAM5 _VL Variante		DIRMTQSPSTLSASVGDRVTITC RASQSISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGT EFTLTISLQPDDFATYYCQQYN A YSTWTFGQGTKVDIK (SEQ ID NO:167) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNAYSTWT (SEQ ID NO:168)
	VH_1078_ G03- CEACAM5 (QH1E)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSEISGSGDRTSYA DSVKGRFTISRDN SKNRLYLQ MNRLRTEDTAVYYCAKDLGP SGWYGLFDYWGQGLVTVS S (SEQ ID NO:352) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGDR (SEQ ID NO:161) (Chothia) o EISGSGDRTSYADSVKG (SEQ ID NO:162) (Kabat) CDR3: DLGPGWYGLFDY (SEQ ID NO:163)	

	VH 1078_G03- CEACAM5 (SH62A)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSEISGSGDRTSYA DAVKGRFTISRDN SKNRLYL QMNRLRTEDTAVYYCAKDL GPSGWYGLFDYWGQGLVT VSS (SEQ ID NO:353) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGDR (SEQ ID NO:161) (Chothia) o EISGSGDRTSYADAVKG (SEQ ID NO: 720) (Kabat) CDR3: DLGPSGWYGLFDY (SEQ ID NO:163)	
	VH 1078_G03C EACAM5 (NH73A)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSEISGSGDRTSYA DSVKGRFTISRDA SKNRLYLQ MNRLRTEDTAVYYCAKDLGP SGWYGLFDYWGQGLVTVS S (SEQ ID NO:354) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGDR (SEQ ID NO:161) (Chothia) o EISGSGDRTSYADAVKG (SEQ ID NO: 720) (Kabat) CDR3: DLGPSGWYGLFDY (SEQ ID NO:163)	
	VH 1078_G03- CEACAM5 (SH74A)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSEISGSGDRTSYA DSVKGRFTISRDN AKNRLYL QMNRLRTEDTAVYYCAKDL GPSGWYGLFDYWGQGLVT VSS (SEQ ID NO:355) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ	

		ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGDR (SEQ ID NO:161) (Chothia) o EISGSGDRTSYADAVKG (SEQ ID NO: 720) (Kabat) CDR3: DLGPSGWYGLFDY (SEQ ID NO:163)	
40.	1078_G03-CEACAM5 Secuencia Consenso	X₁VQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSEISGSGDRTSYA DX₂VKGRFTISRDX₃X₄KNRLY LQMNRLRTEDTAVYYCAKD LGPSGWYGLFDYWGQGTLLV TVSS donde X₁ es Q o E y X₂ es S o A, X₃ es N o A y X₄ es S o A (SEQ ID NO:169) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGDR (SEQ ID NO:161) (Chothia) o EISGSGDRTSYADXVKG (Kabat) donde X es S o A (SEQ ID NO:170) CDR3: DLGPSGWYGLFDY (SEQ ID NO:163)	DIRMTQSPSTLSASVGDRVTITC RASQSISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYKASSLESQVPSRFSGSGSGT EFTLTISSLQPDFFATYYCQQYN X YSTWTFGQGTKVDIK donde X es S o A (SEQ ID NO:171) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNXYSTWT donde X es S o A (SEQ ID NO:172)
41.	1A1.A3-CEACAM5-B.02 de murino	EVQLQESGAELVRSGASVKL SCTASDFNIKDSYMHVWTQR PEQGLEWIGWIDPENGDT EYAPKFQGKATMTADTSSNTAY LHLSSLTSED TAVYYCNVIT VVNYAMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO:173) CDR1: DFNKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPENGDT (SEQ ID NO:176) (Chothia) o WIDPENGDT EYAPKFQG	QIVLSQSPAIMSASPGEKVTITCS TSSSVSYMHWFQQKPGTSPKLW IYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSY SLTISRMEAEDAATYYCQQRN YPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO:179) CDR1: STSSSVSYMH (SEQ ID NO:180) CDR2: STSNLAS (SEQ ID NO:181) CDR3: QQRSNYPLT (SEQ ID NO:182)

		(SEQ ID NO:177) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	
42.	1A1.A3-CEACAM5-B.02-BM-H1_NG humanizada	EVQLVQSGAEVVKPGATVKLSCKASDFNIKDSYMHVWVQQA PGKGLEWIGWIDPENGDEY APKFQGRATITADTSTDYAYL ELSSLRSEDTAVYYCNVITTV VNYAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:183) CDR1: DFNKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPENGD (SEQ ID NO:176) (Chothia) o WIDPENGDEYAPKFQG (SEQ ID NO:177) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	EIVLTQSPATLSASPGERATLSCSTSSSVSYMHWFQQKPGQAPRLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNYPLTFGAGTKVEIK (SEQ ID NO:184) CDR1: STSSSVSYMH (SEQ ID NO:180) CDR2: STSNLAS (SEQ ID NO:181) CDR3: QQRSNYPLT (SEQ ID NO:182)
43.	1A1.A3-CEACAM5-B.02-BM-H1_SG humanizada	EVQLVQSGAEVVKPGATVKLSCKASDFNIKDSYMHVWVQQA PGKGLEWIGWIDPESGDTEY APKFQGRATITADTSTDYAYL ELSSLRSEDTAVYYCNVITTV VNYAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:185) CDR1: DFNKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPESGD (SEQ ID NO:186) (Chothia) o WIDPESGDTEYAPKFQG (SEQ ID NO:187) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	EIVLTQSPATLSASPGERATLSCSTSSSVSYMHWFQQKPGQAPRLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNYPLTFGAGTKVEIK (SEQ ID NO:184) CDR1: STSSSVSYMH (SEQ ID NO:180) CDR2: STSNLAS (SEQ ID NO:181) CDR3: QQRSNYPLT (SEQ ID NO:182)
44.	1A1.A3-CEACAM5-B.02-BM-H2_NG humanizada	EVQLQQSGAEVVKPGATVKLSCKASDFNIKDSYMHVWTQA PGKGLEWIGWIDPENGDEY APKFQGRATMTADTSTDYAYL LESSLRSEDTAVYYCNVITTV VNYAMDYWGQGTLVTVSS	EIVLTQSPATLSASPGERATLSCSTSSSVSYMHWFQQKPGQAPRLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNYPLTFGAGTKVEIK (SEQ ID NO:184)

		(SEQ ID NO:188) CDR1: DFNIKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPENGD (SEQ ID NO:176) (Chothia) o WIDPENGDTHEYAPKFQG (SEQ ID NO:177) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	CDR1: STSSSVSYMH (SEQ ID NO:180) CDR2: STSNLAS (SEQ ID NO:181) CDR3: QQRSNYPLT (SEQ ID NO:182)
45.	1A1.A3-CEACAM5-B.02-BM-H2_SG humanizada	EVQLQQSGAEVVKPGATVKLSCKASDFNIKDSYMHWVTQAPGKGLEWIGWIDPESGDTEYAPKFQGRATMTADTSTDYAYLELSSLRSEDTAVYYCNVITTVVNYAMDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:189) CDR1: DFNIKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPESGD (SEQ ID NO:186) (Chothia) o WIDPESGDTEYAPKFQG (SEQ ID NO:187) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	EIVLTQSPATLSASPGERATLSCSTSSSVSYMHWFQQKPGQAPRLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNYPLTFGAGTKVEIK (SEQ ID NO:184) CDR1: STSSSVSYMH (SEQ ID NO:180) CDR2: STSNLAS (SEQ ID NO:181) CDR3: QQRSNYPLT (SEQ ID NO:182)
46.	1A1.A3-CEACAM5-B.02-BM-H2_QG humanizada	EVQLQQSGAEVVKPGATVKLSCKASDFNIKDSYMHWVTQAPGKGLEWIGWIDPEQGDTEYAPKFQGRATMTADTSTDYAYLELSSLRSEDTAVYYCNVITTVVNYAMDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:190) CDR1: DFNIKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPEQGD (SEQ ID NO:191) (Chothia) o WIDPEQGDTEYAPKFQG (SEQ ID NO:192) (Kabat)	EIVLTQSPATLSASPGERATLSCSTSSSVSYMHWFQQKPGQAPRLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTDYTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNYPLTFGAGTKVEIK (SEQ ID NO:184) CDR1: STSSSVSYMH (SEQ ID NO:180) CDR2: STSNLAS (SEQ ID NO:181) CDR3: QQRSNYPLT (SEQ ID NO:182)

		CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	
	VH_1A1.A3-CEACAM5-B.02-BM-H1_(SH32A)) humanizada	EVQLVQSGAEVVKPGATVKLSCKASDFNIKDAYMHWVQQAPGKGLEWIGWIDPENGDTAYAPKFQGRATITADTSTDYAYLELSSLRSEDYAVYYCNVITTVVNYAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:356) CDR1: DFNIKDA (SEQ ID NO:200) (Chothia) o DAYMH (SEQ ID NO:201) (Kabat) CDR2: DPENGD (SEQ ID NO:176) (Chothia) o WIDPENGDTAYAPKFQG (SEQ ID NO:177) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	
	VH_1A1.A3-CEACAM5-B.02-BM-H1_(NH54Q)) humanizada	EVQLVQSGAEVVKPGATVKLSCKASDFNIKDSYMHVWVQQAPGKGLEWIGWIDPEQGDTEYAPKFQGRATITADTSTDYAYLELSSLRSEDYAVYYCNVITTVVNYAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:198) CDR1: DFNIKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPEQGD (SEQ ID NO:191) (Chothia) o WIDPEQGDTEYAPKFQG (SEQ ID NO:192) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	
	VH_1A1.A3-CEACAM5-B.02-BM-H1_(NH54S)) humanizada	EVQLVQSGAEVVKPGATVKLSCKASDFNIKDSYMHVWVQQAPGKGLEWIGWIDPESGDTEYAPKFQGRATITADTSTDYAYLELSSLRSEDYAVYYCNVITTVVNYAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:185)	

		CDR1: DFNIKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPESGD (SEQ ID NO:186) (Chothia) o WIDPESGDTEYAPKFQG (SEQ ID NO:187) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	
	1A1.A3-CEACAM5-B.02-BM-H2_(NH54 Q) humanizada	EVQLQQSGAEVVKPGATVKL SCKASDFNIKDSYMHWVTQA PGKGLEWIGWIDPEQGDTEY APKFQGRATMTADTSTDYAY LELSSLRSEDYAVYYCNVITT VVNYAMDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:190) CDR1: DFNIKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPEQGD (SEQ ID NO:191) (Chothia) o WIDPEQGDTEYAPKFQG (SEQ ID NO:192) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	
	1A1.A3-CEACAM5-B.02-BM-H2_(NH54S) humanizada	EVQLQQSGAEVVKPGATVKL SCKASDFNIKDSYMHWVTQA PGKGLEWIGWIDPESGDTEY APKFQGRATMTADTSTDYAY LELSSLRSEDYAVYYCNVITT VVNYAMDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:189) CDR1: DFNIKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPESGD (SEQ ID NO:186) (Chothia) o WIDPESGDTEYAPKFQG (SEQ ID NO:187) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ	

		ID NO:178)	
47.	humanizada 1A1.A3- CEACAM5 -B.02-BM- H1_NG- VH; 1A1.A3- CEACAM5 -B.02-BM- H1_SG-VH; 1A1.A3- CEACAM5 -B.02-BM- H2_NG- VH; 1A1.A3- CEACAM5 -B.02-BM- H2_SG-VH; 1A1.A3- CEACAM5 -B.02-BM- H2_QG-VH Secuencia Consenso	EVQLX ₁ QSGAEVVKPGATVK LSCKASDFNIKDX ₂ YMHVWX ₃ QAPGKGLEWIGWIDPEX ₄ GDT EYAPKFQGRATX ₅ TADTSTDT AYLELSSLRSED TAVYYCNVI TTVVNYAMDYWGQGT LVTV SS donde X ₁ es Q o V, X ₂ es S o A, X ₃ es T o Q, X ₄ es Q, S o N y X ₅ es m o I (SEQ ID NO:193) CDR1: DFNKDX (SEQ ID NO:194) (Chothia) o DXYMH (Kabat) donde X es S o A (SEQ ID NO:195) CDR2: DPEXGD (SEQ ID NO:196) (Chothia) o WIDPEXGDTEYAPKFQG (Kabat) donde X es Q, S o N (SEQ ID NO:197) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	EIVLTQSPATLSASPGERATLSCS TSSSVSYMHWFQKPGQAPRLW IYSTSNLASGVPARFSGSGSGTD YTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSN YPLTFGAGTKVEIK (SEQ ID NO:184) CDR1: STSSSVSYMH (SEQ ID NO:180) CDR2: STSNLAS (SEQ ID NO:181) CDR3: QQRSNYPLT (SEQ ID NO:182)
48.	1A1.A3- CEACAM5 -B.02-BM- H1_QG-VH humanizada	EVQLVQSGAEVVKPGATVKL SCKASDFNIKDSYMHVWVQQA PGKGLEWIGWIDPEQGDTEY APKFQGRATITADTSTD TAYL ELSSLRSED TAVYYCNVITTV VNYAMDYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO:198) CDR1: DFNKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPEQGD (SEQ ID NO:191) (Chothia) o WIDPEQGDTEYAPKFQG (SEQ ID NO:192) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	EIVLTQSPATLSASPGERATLSCS TSSSVSYMHWFQKPGQAPRLW IYSTSNLASGVPARFSGSGSGTD YTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSN YPLTFGAGTKVEIK (SEQ ID NO:184) CDR1: STSSSVSYMH (SEQ ID NO:180) CDR2: STSNLAS (SEQ ID NO:181) CDR3: QQRSNYPLT (SEQ ID NO:182)
49.	1A1.A3- CEACAM5	EVQLVQSGAEVVKPGATVKL SCKASDFNIKDAYMHVWVQQ	EIVLTQSPATLSASPGERATLSCS TSSSVSYMHWFQKPGQAPRLW

	-B.02-BM-H1_QG-VH humanizada (Variante 2)	APGKGLEWIGWIDPEQGDTE YAPKFQGRATITADTSTDYAY LELSSLRSEDYAVYYCNVITT VVNYAMDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:199) CDR1: DFNKDA (SEQ ID NO:200) (Chothia) o DAYMH (SEQ ID NO:201) (Kabat) CDR2: DPEQGD (SEQ ID NO:191) (Chothia) o WIDPEQGDTEYAPKFQG (SEQ ID NO:192) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	IYSTSNLASGVPARFSGSGSGTD YTLTISSLEPEDFAVYYCQQRN YPLTFGAGTKVEIK (SEQ ID NO:184) CDR1: STSSSVSYM (SEQ ID NO:180) CDR2: STSNLAS (SEQ ID NO:181) CDR3: QQRSNYPLT (SEQ ID NO:182)
50.	1A1.A3-CEACAM5 -B.02-BM-H1_QG-VH humanizada Secuencia Consenso	EVQLVQSGAEVVKPGATVKL SCKASDFNIKDXMHVWQQ APGKGLEWIGWIDPEQGDTE YAPKFQGRATITADTSTDYAY LELSSLRSEDYAVYYCNVITT VVNYAMDYWGQGTLLTVSS donde X es S o A (SEQ ID NO:202) CDR1: DFNKDX (SEQ ID NO:194) (Chothia) o DXYMH (Kabat) donde X es S o A (SEQ ID NO:195) CDR2: DPEQGD (SEQ ID NO:191) (Chothia) o WIDPEQGDTEYAPKFQG (SEQ ID NO:192) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	EIVLTQSPATLSASPGERATLSCS TSSSVSYMHWVQKPGQAPRLW IYSTSNLASGVPARFSGSGSGTD YTLTISSLEPEDFAVYYCQQRN YPLTFGAGTKVEIK (SEQ ID NO:184) CDR1: STSSSVSYM (SEQ ID NO:180) CDR2: STSNLAS (SEQ ID NO:181) CDR3: QQRSNYPLT (SEQ ID NO:182)
	4B10.B3-CEACAM5-A.02_VH1	EVQLQESGAELMKPGASVKIS CKATGYTFSTYWIEWVKPRP GHGLEWIGEILPGTGTNYNE KFKGKATFTADTSSNTAYMQ LSSLTSEDSAVYYCATLNGH GDYWYFDVWGAGTTTVTVSS (SEQ ID NO:639) CDR1: GYTFSTY (SEQ ID NO:640) (Chothia) o TYWIE	

		(SEQ ID NO:641) (Kabat) CDR2: LPGTGT (SEQ ID NO:642) (Chothia) o EILPGTGTTNYNEKFKG (SEQ ID NO:643) (Kabat) CDR3: LNGHGDYWYFDV (SEQ ID NO:644)	
	4B10.B3-CEACAM5-A.02_VH2	QVQLQQSGAELMKPGASVKI SCKATGYTFSTYWIEWVKPR PGHGLEWIGEILPGTGTTNYN EKFKGKATFTADTSSNTAYM QLSSLTSEDSAVYYCATLNG HGDYWYFDVWGAGTTVTVS S (SEQ ID NO:645) CDR1: GYTFSTY (SEQ ID NO:640) (Chothia) o TYWIE (SEQ ID NO:641) (Kabat) CDR2: LPGTGT (SEQ ID NO:642) (Chothia) o EILPGTGTTNYNEKFKG (SEQ ID NO:643) (Kabat) CDR3: LNGHGDYWYFDV (SEQ ID NO:644)	
	4B10.B3-CEACAM5-A.02_VL		QAVVTQESALTTSPGETVTLTCR SSTGGVTTSNYANWVQEKPDHL FTGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLI GDKAALTITGAQTEDEAIYFCAL WYSNHLVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:646) CDR1: RSSTGGVTTSNYAN (SEQ ID NO:647) CDR2: GTNNRAP (SEQ ID NO:648) CDR3: ALWYSNHLV (SEQ ID NO:649)
	13C7.A6-CEACAM5-B.02_VH1	EVQLQESGPPELVKPGASLKIS CKASGYSFTDYTMNWVKQS HGKNLEWIGLINPYNGGTTY	

		NQKFKDMATLTVDKSSSTAY MELLSLTSEDSAVYYCARSE YGHSYWFYFDVWGAGTTVTV SP (SEQ ID NO:650) CDR1: GYSFTDY (SEQ ID NO:651) (Chothia) o DYTMN (SEQ ID NO:652) (Kabat) CDR2: NPYNGG (SEQ ID NO:653) (Chothia) o LINPYNGGTTYNQKFKD (SEQ ID NO:654) (Kabat) CDR3: SEYGHSYWFYFDV (SEQ ID NO:655)	
	13C7.A6- CEACAM5 -B.02_VH2	EVQLQQSGPELVKPGASLKIS CKASGYSFTDYTMNWVKQS HGKNLEWIGLINPYNGGTTY NQKFKDMATLTVDKSSSTAY MELLSLTSEDSAVYYCARSE YGHSYWFYFDVWGAGTTVTV SS (SEQ ID NO:656) CDR1: GYSFTDY (SEQ ID NO:651) (Chothia) o DYTMN (SEQ ID NO:652) (Kabat) CDR2: NPYNGG (SEQ ID NO:653) (Chothia) o LINPYNGGTTYNQKFKD (SEQ ID NO:654) (Kabat) CDR3: SEYGHSYWFYFDV (SEQ ID NO:655)	
	13C7.A6- CEACAM5 -B.02_VL1		DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTMSC KSSHSLLYGNFQNNYLAWYQQ KPGQSPKLLIWASTRESGVPDR FTGSGSGTDFTLTISVKAEDLA VYYCQQYYSPYTFGGGTKLEI K (SEQ ID NO:106) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID

			NO:108) CDR3: QQYYSPYPT (SEQ ID NO:109)
	13C7.A6-CEACAM5-B.02_VL2		QIVLTQSPAISASPGEKVTLTCS PSSSVTYMHWYQQKSGTSPKRW IYDTSKLASGVPARFSGIGSGTSY SLTINSMEAEDAATYYCQQWNN YPYTFGGGTRLEIK (SEQ ID NO:657) CDR1: SPSSSVTYMH (SEQ ID NO:658) CDR2: DTSKLAS (SEQ ID NO:659) CDR3: QQWNNYPYT (SEQ ID NO:660)
	13C7.A6-CEACAM5-B.02_VL3		DIQMTQSPASLSASVGDVTITC RASENIYSYFAWYQQKQKSPR LLVYNARALAEGVPSRFGSGSG TQFSKINSLQPEDFGSYQCQHL Y GAPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO:661) CDR1: RASENIYSYFA (SEQ ID NO:662) CDR2: NARALAE (SEQ ID NO:663) CDR3: QHLYGAPFT (SEQ ID NO:664)
	7E11.B2-CEACAM5-B.02_VH1	QIQLVQSGPELKKPGETVKIS CKASGYSFTKYGMNWVKQA PGKGLKWMGWINTYSGEPTY ADDFEGRFAFSLETSANTAYL QINNLLKNEDMATYFCARGGG FDYGFYWGQGTTLTVST (SEQ ID NO:665) CDR1: GYSFTKY (SEQ ID NO:666) (Chothia) o KYGMN (SEQ ID NO:667) (Kabat) CDR2: NTYSGE (SEQ ID	

		NO:668) (Chothia) o WINTYSGEPTYADDFEG (SEQ ID NO:669) (Kabat) CDR3: GGGFDYGFDY (SEQ ID NO:670)	
	7E11.B2- CEACAM5 -B.02_VH2	QIQLVQSGPELKKPGETVKIS CKASGYSFTKYGMNWVKQA PGKGLKWMGWINTYSGEPTY ADDFEGRFAFSLETSANTAYL QINNPKNEDMATYFCARGGG FDYGFYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:699) CDR1: GYSFTKY (SEQ ID NO:666) (Chothia) o KYGMN (SEQ ID NO:667) (Kabat) CDR2: NTYSGE (SEQ ID NO:668) (Chothia) o WINTYSGEPTYADDFEG (SEQ ID NO:669) (Kabat) CDR3: GGGFDYGFDY (SEQ ID NO:670)	
	7E11.B2- CEACAM5 -B.02_VL		QIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTC SASSSVSYIHWYRQRSGTSPKRW IYDTSKSLASGVPARFSGSGSTS YSLTISTMEAEDAATYYCQQWS NYPYTFGGGTTKLEIK (SEQ ID NO:671) CDR1: SASSSVSYIH (SEQ ID NO:672) CDR2: DTSKSLAS (SEQ ID NO:659) CDR3: QQWSNYPYT (SEQ ID NO:673)
	10D6.E3- CEACAM5 -B.02_VH	EVQLQQSGPELVKPGASKIS CKASGYSFTDYTMNWVKQS HGKNLEWIGHIYPYNGGTTY NQKFQDKASLTADKSSSTAY MELLSLTSEDSAVYYCARGE FLRSYWFYDVGAGTLVAV SS (SEQ ID NO:674)	

		CDR1: GYSFTDY (SEQ ID NO:651) (Chothia) o DYTEMN (SEQ ID NO:652) (Kabat) CDR2: YPYNGG (SEQ ID NO:675) (Chothia) o HIYPYNGGTTYNQKFQD (SEQ ID NO:676) (Kabat) CDR3: GEFLRSYWYFDV (SEQ ID NO:677)	
	10D6.E3-CEACAM5-B.02_VL1		QIVLTQSPAISASPGKVTLTCS PSSSVTYMHWYQQKSGTSPKRW IYDTSKSLASGVPARFSGIGSGTSY SLTINSMEAEDAATYYCQQWNN YPYTFGGGGTKLEIK (SEQ ID NO:678) CDR1: SPSSSVTYMH (SEQ ID NO:658) CDR2: DTSKSLAS (SEQ ID NO:659) CDR3: QQWNNYPYT (SEQ ID NO:660)
	10D6.E3-CEACAM5-B.02_VL2		DIQMTQSPASLSASVGETVTITC RGSSENIYSYLTWYQQKQKSPQ LLVYNKTLAEVPSRFSGSGSG TQFSLKINSIQPEDFGRYCQHL YSSPYTFGGGGTKLEIK (SEQ ID NO:679) CDR1: RGSSENIYSYLT (SEQ ID NO:680) CDR2: NAKTLAE (SEQ ID NO:681) CDR3: QHLYSSPYT (SEQ ID NO:682)
	13C7.F2-CEACAM5-B.02_VH	EVQLQQSGPELVKPGASLKIS CKASGYSFTDYTMNWVKQS HGKNLEWIGLINPYNGGTTY NQKFKDMATLTVDKSSSTAY MELLSTSEDSAVYYCARSE	

		YGHSYWYFDVWGAGTTVTV SS (SEQ ID NO:656) CDR1: GYSFTDY (SEQ ID NO:651) (Chothia) o DYT MN (SEQ ID NO:652) (Kabat) CDR2: NPYNGG (SEQ ID NO:653) (Chothia) o LINPYNGGTTYNQKFKD (SEQ ID NO:654) (Kabat) CDR3: SEYGHSYWYFDV (SEQ ID NO:655)	
	13C7.F2- CEACAM5 -B.02_VL1		QIVLTQSPA IMSASPGEKVTLTCS PSSSVTYMH WYQQKSGTSPKRW IYDTSKLASGV PARFSGIGSGTSY SLTINSMEAEDAATYYCQQWNN YPYTFGGGTRLEIK (SEQ ID NO:657) CDR1: SPSSSVTYMH (SEQ ID NO:658) CDR2: DTSKLAS (SEQ ID NO:659) CDR3: QQWNNYPYT (SEQ ID NO:660)
	13C7.F2- CEACAM5 -B.02_VL2		DIQMTQSPASLSASVGDTVTITC RASENIYSYFAWYQQKQKGKSPR LLVYNARALAE GVPSRFSGSGSG TQFSLKINS LQPEDFGSYYCQHL YGAPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO:683) CDR1: RASENIYSYFA (SEQ ID NO:662) CDR2: NARALAE (SEQ ID NO:663) CDR3: QHLYGAPFT (SEQ ID NO:664)
51.	16B11.G2- CEACAM5 -B.01_VH	QVQLQESGPGLVTPSGTSLT CAVSGDSISSHWWSWVRQP PGKGLEWIGE IYHSGITNYRS	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSC RASQSVRSNLAWYLQKPGQAPR LLIYGASTRATGIPARFSGSGSGT

	y 16B11.G2- CEACAM5 -B.01_VL	SLKSRVTLSVDKSKNQFSLKL TSVTAADTAVYYCARGGSGN YEAFDIWGQGTFTVSS (SEQ ID NO:684) CDR1: GDSISSSH (SEQ ID NO:685) (Chothia) o SSHWWS (SEQ ID NO:686) (Kabat) CDR2: YHSGI (SEQ ID NO:687) (Chothia) o EIYHSGITNYRSSLKS (SEQ ID NO:688) (Kabat) CDR3: GGSGNYEAFDI (SEQ ID NO:689)	EFTLTISLQSEDAVYYCQQYN NWPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:690) CDR1: RASQSVRSNLA (SEQ ID NO:62) CDR2: GASTRAT (SEQ ID NO:63) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)
Nivel 3			
52.	1080_G01- CEACAM5	QVQLVESGGGVVQSGRSLRL SCAASGMFMSNFAMHWVRQ APGKGLEWVGVIWYDGSNK FYADSVKGRFTISRDNKNTL NLQMSRLRAEDTAVYYCAR DGREVWRYYYHYGMDVWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO:377) CDR1: GFMFSNF (SEQ ID NO:204) (Chothia) o NFAMH (SEQ ID NO:205) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o VIWYDGSNKFYADSVKG (SEQ ID NO:206) (Kabat) CDR3: DGREVWRYYYHYGMDV (SEQ ID NO:207)	EIVLTQSPSTLSASVGDRVTITCR ASQSSISNWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPDDEFATYYCQQYNS YSYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:208) CDR1: RASQSSISNWL (SEQ ID NO:209) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSYT (SEQ ID NO:9)
	1080_G01- CEACAM5 _VL Variante		EIVLTQSPSTLSASVGDRVTITCR ASQSSISNWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPDDEFATYYCQQYNA YSYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:210) CDR1: RASQSSISNWL (SEQ ID NO:209)

			CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNAYSYT (SEQ ID NO:27)
	VH 1080_G01- CEACAM5 _(QH1E)	EVQLVESGGGVVQSGRSLRL SCAASGFMFSNFAMHWVRQ APGKGLEWVGVIWYDGSNK FYADSVKGRFTISRDN SKNTL NLQMSRLRAEDTAVYYCAR DGREVWRYYYHYGMDVWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO:357) CDR1: GFMFSNF (SEQ ID NO:204) (Chothia) o NFAMH (SEQ ID NO: 205) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o VIWYDGSNKFYADSVKG (SEQ ID NO:206) (Kabat) CDR3: DGREVWRYYYHYGMDV (SEQ ID NO:203)	
	VH 1080_G01- CEACAM5 _(GH54A)	QVQLVESGGGVVQSGRSLRL SCAASGFMFSNFAMHWVRQ APGKGLEWVGVIWYDASNK FYADSVKGRFTISRDN SKNTL NLQMSRLRAEDTAVYYCAR DGREVWRYYYHYGMDVWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO:358) CDR1: GFMFSNF (SEQ ID NO:204) (Chothia) o NFAMH (SEQ ID NO:205) (Kabat) CDR2: WYDASN (SEQ ID NO:359) (Chothia) o VIWYDASNKFYADSVKG (SEQ ID NO:360) (Kabat) CDR3: DGREVWRYYYHYGMDV (SEQ ID NO:203)	
	VH 1080_G01- CEACAM5 _(SH62A)	QVQLVESGGGVVQSGRSLRL SCAASGFMFSNFAMHWVRQ APGKGLEWVGVIWYDGSNK FYADAVKGRFTISRDN SKNTL	

		NLQMSRLRAEDTAVYYCAR DGREVWRYYYHYGMDVWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO:361) CDR1: GFMFSNF (SEQ ID NO:204) (Chothia) o NFAMH (SEQ ID NO:205) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o VIWYDGSNKFYADAVKG (SEQ ID NO:362) (Kabat) CDR3: DGREVWRYYYHYGMDV (SEQ ID NO:207)	
	VH 1080_G01- CEACAM5 _(NH73A)	QVQLVESGGGVVQSGRSLRL SCAASGFMFSNFAMHWVRQ APGKGLEWVGVIWYDGSNK FYADSVKGRFTISRDAKNTL NLQMSRLRAEDTAVYYCAR DGREVWRYYYHYGMDVWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO:363) CDR1: GFMFSNF (SEQ ID NO:204) (Chothia) o NFAMH (SEQ ID NO:205) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o VIWYDGSNKFYADSVKG (SEQ ID NO:206) (Kabat) CDR3: DGREVWRYYYHYGMDV (SEQ ID NO:207)	
	VH 1080_G01- CEACAM5 _(SH74A)	QVQLVESGGGVVQSGRSLRL SCAASGFMFSNFAMHWVRQ APGKGLEWVGVIWYDGSNK FYADSVKGRFTISRDAKNTL NLQMSRLRAEDTAVYYCAR DGREVWRYYYHYGMDVWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO:364) CDR1: GFMFSNF (SEQ ID NO:204) (Chothia) o NFAMH (SEQ ID NO:205) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID	

		NO:70) (Chothia) o VIWYDGSNKFYADSVKG (SEQ ID NO:206) (Kabat) CDR3: DGREVWRYYYHYGMDV (SEQ ID NO:207)	
	VH 1080_G01- CEACAM5 _(GH96A)	QVQLVESGGGVVQSGRSLRL SCAASGFMFSNFAMHWVRQ APGKGLEWVGVIWYDGSNK FYADSVKGRFTISRDNKNTL NLQMSRLRAEDTAVYYCAR DAREVWRYYYHYGMDVWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO:365) CDR1: GFMFSNF (SEQ ID NO:204) (Chothia) o NFAMH (SEQ ID NO:205) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o VIWYDGSNKFYADSVKG (SEQ ID NO:206) (Kabat) CDR3: DAREVWRYYYHYGMDV (SEQ ID NO:366)	
53.	1080_G01- CEACAM5 Secuencia Consenso	X₁VQLVESGGGVVQSGRSLRL SCAASGFMFSNFAMHWVRQ APGKGLEWVGVIWYDX₂SNK FYADX₃VKGRFTISRDX₄X₅KN TLNLQMSRLRAEDTAVYYCA RDX₆REVWRYYYHYGMDVWG QGTTVTVSS donde X₁ es Q o E, X₂ es G o A y X₃ es S o A, X₄ es N o A, X₅ es S o A y X₆ es G y A (SEQ ID NO:211) CDR1: GFMFSNF (SEQ ID NO:204) (Chothia) o NFAMH (SEQ ID NO:205) (Kabat) CDR2: WYDXSN (SEQ ID NO:212) (Chothia) o VIWYDXSNKFYADSVKG (Kabat) donde X es G o A (SEQ ID NO:213)	EIVLTQSPSTLSASVGDRVTITCR ASQSSISNWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESQVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPDFFATYYCQQYNX YSYTFGQGTKVEIK donde X es S o A (SEQ ID NO:215) CDR1: RASQSSISNWL (SEQ ID NO:209) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNXYSYT donde X es S o A (SEQ ID NO:33)

		CDR3: DXREVWRYYYHYGMDV donde X es G o A (SEQ ID NO:214)	
54.	1078_C12- CEACAM5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCTASGYTFTGYFIHWVRQAP GQGLEWMGWINPHSGATNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY MELSSLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:216) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYFIH (SEQ ID NO:218) (Kabat) CDR2: NPHSGA (SEQ ID NO:219) (Chothia) o WINPHSGATNYAQKFQG (SEQ ID NO:220) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYG NPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:222) CDR1: RASQSISSYLN (SEQ ID NO:223) CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:224) CDR3: QQSYGNPLT (SEQ ID NO:225)
	VH_1078_ C12- CEACAM5 (QH1E)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCTASGYTFTGYFIHWVRQAP GQGLEWMGWINPHSGATNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY MELSSLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:367) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYFIH (SEQ ID NO:218) (Kabat) CDR2: NPHSGA (SEQ ID NO:219) (Chothia) o WINPHSGATNYAQKFQG (SEQ ID NO:220) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
	VH_1078_ C12- CEACAM5 (MH48I)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCTASGYTFTGYFIHWVRQAP GQGLEWIGWINPHSGATNYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYM ELSSLRSDDTAVYYCARVSY YGLDVWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:368)	

		CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYFIH (SEQ ID NO:218) (Kabat) CDR2: NPHSGA (SEQ ID NO:219) (Chothia) o WINPHSGATNYAQKFQG (SEQ ID NO:220) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
	VH_1078_C12-CEACAM5 (MH48V)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCTASGYTFTGYFIHWVRQAP GQGLEWVGWINPHSGATNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY MELSSLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:369) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYFIH (SEQ ID NO:218) (Kabat) CDR2: NPHSGA (SEQ ID NO:219) (Chothia) o WINPHSGATNYAQKFQG (SEQ ID NO:220) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
	VH_1078_C12-CEACAM5 (MH69I)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCTASGYTFTGYFIHWVRQAP GQGLEWMGWINPHSGATNY AQKFQGRVTITRDTSISTAYM ELSSLRSDDTAVYYCARVSY YGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:370) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYFIH (SEQ ID NO:218) (Kabat) CDR2: NPHSGA (SEQ ID NO:219) (Chothia) o WINPHSGATNYAQKFQG (SEQ ID NO:220) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID	

		NO:221)	
	VH_1078_C12-CEACAM5 (MH69V)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCTASGYTFTGYFIHWVRQAP GQGLEWMGWINPHSGATNY AQKFQGRVTVTTRDTSISTAY MELSSLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:371) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYFIH (SEQ ID NO:218) (Kabat) CDR2: NPHSGA (SEQ ID NO:219) (Chothia) o WINPHSGATNYAQKFQG (SEQ ID NO:220) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
55.	1078_C12-CEACAM5 Secuencia Consenso	X₁VQLVQSGAEVKKPGASVK VSCTASGYTFTGYFIHWVRQ APGQGLEWX₂GWINPHSGAT NYAQKFQGRVTX₃TRDTSIST AYMELSSLRSDDTAVYYCAR VSYYGLDVWGQGTTVTVSS donde X₁ es Q o E, donde X₂ es M, V o I y X₃ es M, V o I (SEQ ID NO:226) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYFIH (SEQ ID NO:218) (Kabat) CDR2: NPHSGA (SEQ ID NO:219) (Chothia) o WINPHSGATNYAQKFQG (SEQ ID NO:220) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYG NPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO:222) CDR1: RASQSISSYLN (SEQ ID NO:223) CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:224) CDR3: QQSYGNPLT (SEQ ID NO:225)
56.	1078_F02-CEACAM5	QVQLQESGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPNSGDTN Y AQKFQGRVTMTRDTSISTA YMELSRLRSDDTAVYYCARV SYYGLDVWGQGTTVTVSS	DIVLTQTPSSLSASVGDRVTITC WASQSISSYLNWYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYS TPLTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:231)

		(SEQ ID NO:227) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNSGD (SEQ ID NO:229) (Chothia) o WINPNSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:230) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	CDR1: WASQSISSYLN (SEQ ID NO:232) CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:224) CDR3: QQSYSTPLT (SEQ ID NO:233)
57.	1079_B08-CEACAM5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPSSGDTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:234) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPSSGD (SEQ ID NO:235) (Chothia) o WINPSSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:236) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYSN PLTFGGGTKVDIK (SEQ ID NO:237) CDR1: RASQSISSYLN (SEQ ID NO:223) CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:224) CDR3: QQSYSNPLT (SEQ ID NO:238)
	VH_1078_F02-CEACAM5 (QH1E)	EVQLQESGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPNSGDTN YAQKFQGRVTMTRDTSISTA YMELSRLRSDDTAVYYCARV SYYGLDVWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:372) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPHSGA (SEQ ID NO:219) (Chothia) o WINPHSGATNYAQKFQG (SEQ ID NO:220) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID	

		NO:221)	
	VH1078_F0 2- CEACAM5 (N5H3S)	QVQLQESGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPSSGDTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:373) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPSSGD (SEQ ID NO:235) (Chothia) o WINPSSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:236) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
	VH1078_F0 2- CEACAM5 (SH54A)	QVQLQESGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPAGDTN YAQKFQGRVTMTRDTSISTA YMELSRLRSDDTAVYYCARV SYYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:374) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNAGD (SEQ ID NO:375) (Chothia) o WINPAGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:376) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
	VH1078_F0 2- CEACAM5 (MH48I)	QVQLQESGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWIGWINPNSGDTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:378) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID	

		NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNSGD (SEQ ID NO:229) (Chothia) o WINPNSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:230) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
	VH1078_F0 2- CEACAM5 (MH48V)	QVQLQESGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWVGWINPNSGDTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:379) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNSGD (SEQ ID NO:229) (Chothia) o WINPNSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:230) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
	VH1078_F0 2- CEACAM5 (MH69I)	QVQLQESGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPNSGDTN YAQKFQGRVTITRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:380) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNSGD (SEQ ID NO:229) (Chothia) o WINPNSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:230) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	

	VH1078_F0 2- CEACAM5 (MH69V)	QVQLQESGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPNSGDTN YAQKFQGRVTVTRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:381) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNSGD (SEQ ID NO:229) (Chothia) o WINPNSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:230) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
	VH1078_F0 2- CEACAM5 (MH80I)	QVQLQESGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPNSGDTN YAQKFQGRVTMTRDTSISTA YIELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:382) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNSGD (SEQ ID NO:229) (Chothia) o WINPNSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:230) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
	VH1078_F0 2- CEACAM5 (MH80V)	QVQLQESGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPNSGDTN YAQKFQGRVTMTRDTSISTA YVELSRLRSDDTAVYYCARV SYYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:383) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH	

		(SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNSGD (SEQ ID NO:229) (Chothia) o WINPNSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:230) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
	VH 1079_B08- CEACAM5 (QH1E)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPSSGDTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:384) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPSSGD (SEQ ID NO:235) (Chothia) o WINPSSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:236) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
	VH 1079_B08- CEACAM5 (MH48I)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWIGWINPSSGDTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:385) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPSSGD (SEQ ID NO:235) (Chothia) o WINPSSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:236) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV	

	1079_B08-CEACAM5 (MH48V)	SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWVGWINPSSGDTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:386) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPSSGD (SEQ ID NO:235) (Chothia) o WINPSSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:236) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
	VH 1079_B08-CEACAM5 (MH69I)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPSSGDTNY AQKFQGRVTITRDTSISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARVSY YGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:387) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPSSGD (SEQ ID NO:235) (Chothia) o WINPSSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:236) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
	VH 1079_B08-CEACAM5 (MH69V)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPSSGDTNY AQKFQGRVTVTRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:388) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat)	

		CDR2: NPSSGD (SEQ ID NO:235) (Chothia) o WINPSSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:236) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
	VH 1079_B08-CEACAM5 (MH80I)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPSSGDTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAYI ELSRLRSDDTAVYYCARVSY YGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:389) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPSSGD (SEQ ID NO:235) (Chothia) o WINPSSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:236) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
	VH 1079_B08-CEACAM5 (MH80V)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPSSGDTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY VELSRRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:390) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPSSGD (SEQ ID NO:235) (Chothia) o WINPSSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:236) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
58.	Secuencia Consenso VH	X₁VQLX₂X₃SGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFTGYLHWVR QAPGQGLEWX₄GWINPX₅X₆G	DIVLTQTPSSLSASVGDRVITC WASQSISSYLNWYQQKPGKAPK LLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGT

	[1078_F02-CEACAM5; 1079_B08-CEACAM5] y VL [1078_F02-CEACAM5]]	DTNYAQKFQGRVTX ₇ TRDTSI STAYX ₈ ELSRLRSDDTAVYYC ARVSYYGGLDVWGQGTTVTV SS donde X ₁ es Q o E, X ₂ es Q o V, X ₃ es E o Q, X ₄ es M, V o I, X ₅ es N o S, X ₆ es S o A, X ₇ es M, V o I y X ₈ es M, V o I (SEQ ID NO:239) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPX ₁ X ₂ GD (SEQ ID NO:240) (Chothia) o WINPX ₁ X ₂ GDTNYAQKFQG (Kabat) donde X ₁ es N o S y X ₂ es S o A (SEQ ID NO:241) CDR3: VSYYGGLDV (SEQ ID NO:221)	DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYS TPLTFGGGTTKLEIK (SEQ ID NO:231) CDR1: WASQSISSYLN (SEQ ID NO:232) CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:224) CDR3: QQSYSTPLT (SEQ ID NO:233)
59.	Secuencia Consenso VH [1078_F02-CEACAM5; 1079_B08-CEACAM5]] y VL [1079_B08-CEACAM5]]	X ₁ VQLX ₂ X ₃ SGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFTGYLHWVR QAPGQGLEWX ₄ GWINPX ₅ X ₆ G DTNYAQKFQGRVTX ₇ TRDTSI STAYX ₈ ELSRLRSDDTAVYYC ARVSYYGGLDVWGQGTTVTV SS donde X ₁ es Q o E, X ₂ es Q o V, X ₃ es E o Q, X ₄ es M, V o I, X ₅ es N o S y X ₆ es S o A, X ₇ es M, V o I y X ₈ es M, V o I (SEQ ID NO:239) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPX ₁ X ₂ GD (SEQ ID NO:240) (Chothia) o WINPX ₁ X ₂ GDTNYAQKFQG (Kabat) donde X ₁ es N o S y X ₂ es S o A (SEQ ID NO:241) CDR3: VSYYGGLDV (SEQ ID NO:221)	EIVLTQSPSSLSASVGDRTITCR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYSN PLTFGGGTTKVDIK (SEQ ID NO:237) CDR1: RASQSISSYLN (SEQ ID NO:223) CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:224) CDR3: QQSYSNPLT (SEQ ID NO:238)

60.	1078_G03-CEACAM5	QVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSEISGSGDRTSYA DSVKGRFTISRDN SKNRLYLQ MNRLRTEDTAVYYCAKDLGP SGWYGLFDYWGQGT LTVS S (SEQ ID NO:160) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGDR (SEQ ID NO:161) (Chothia) o EISGSGDRTSYADSVKG (SEQ ID NO:162) (Kabat) CDR3: DLGPSGWYGLFDY (SEQ ID NO:163)	DIRMTQSPSTLSASVGDRVTITC RASQSISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYKASSLESQVPSRFSGSGSGT EFTLTISSLQPDDFATYYCQQYN SYSTWTFGQGTKVDIK (SEQ ID NO:164) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSTWT (SEQ ID NO:166)
	VH 1078_G03-CEACAM5 (QH1E)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSEISGSGDRTSYA DSVKGRFTISRDN SKNRLYLQ MNRLRTEDTAVYYCAKDLGP SGWYGLFDYWGQGT LTVS S (SEQ ID NO:352) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGDR (SEQ ID NO:161) (Chothia) o EISGSGDRTSYADSVKG (SEQ ID NO:162) (Kabat) CDR3: DLGPSGWYGLFDY (SEQ ID NO:163)	
	VH 1078_G03-CEACAM5 (SH62A)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSEISGSGDRTSYA DAVKGRFTISRDN SKNRLYL QMNRLRTEDTAVYYCAKDL GPSGWYGLFDYWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:353) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ	

		ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGDR (SEQ ID NO:161) (Chothia) o EISGSGDRTSYADSVKG (SEQ ID NO:162) (Kabat) CDR3: DLGPSGWYGLFDY (SEQ ID NO:163)	
61.	1078_G03-CEACAM5 Secuencia Consenso	X₁VQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSEISGSGDRTSYA DX₂VKGRFTISRDN SKNRLYL QMNRLRTEDTAVYYCAKDL GPSGWYGLFDYW GQGTLVT VSS donde X₁ es Q o E y X₂ es S o A (SEQ ID NO:242) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGDR (SEQ ID NO:161) (Chothia) o EISGSGDRTSYADSVKG (Kabat) donde X es S o A (SEQ ID NO:170) CDR3: DLGPSGWYGLFDY (SEQ ID NO:163)	DIRMTQSPSTLSASVGDRVTITC RASQSISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYKASSLES GVP SRFS GSGSGT EFTLTISSLQPD DFATYYCQQYN SYSTWTFGQG TKVDIK (SEQ ID NO:164) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSTWT (SEQ ID NO:166)
62.	1079_A10-CEACAM5	QVQLVESGA EVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPNNGDTN YAQKFQGRVTMTRDTSISTA YMELSR LRSDDTAVYYCARV SYYGLDVWGQGTTVT VSS (SEQ ID NO:243) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNNGD (SEQ ID NO:244) (Chothia) o WINPNNGDTN YAQKFQG (SEQ ID NO:245) (Kabat)	DIRMTQSPSSLSASVGDRVTIICR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSN PLTFGGG TKVEIK (SEQ ID NO:246) CDR1: RASQSISSYLN (SEQ ID NO:223) CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:224) CDR3: QQSYSNPLT (SEQ ID NO:238)

		CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
63.	1079_A10-CEACAM5_VH Variante	EVQLVESGAIEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPNNNGDTN YAQKFQGRVTMTRDTSISTA YMELSRLRSDDTAVYYCARV SYYGLDVWGQGTITVTVSS (SEQ ID NO:247) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNNGD (SEQ ID NO:244) (Chothia) o WINPNNNGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:245) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	DIRMTQSPSSLSASVGDRVTIICR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYSN PLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:246) CDR1: RASQSISSYLN (SEQ ID NO:223) CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:224) CDR3: QQSYSNPLT (SEQ ID NO:238)
64.	1079_A10-CEACAM5 Secuencia Consenso	XVQLVESGAIEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPNNNGDTN YAQKFQGRVTMTRDTSISTA YMELSRLRSDDTAVYYCARV SYYGLDVWGQGTITVTVSS donde X es Q o E (SEQ ID NO:248) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNNGD (SEQ ID NO:244) (Chothia) o WINPNNNGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:245) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	DIRMTQSPSSLSASVGDRVTIICR ASQSISSYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISLQPEDFATYYCQQSYSN PLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:246) CDR1: RASQSISSYLN (SEQ ID NO:223) CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:224) CDR3: QQSYSNPLT (SEQ ID NO:238)
65.	1079_A12-CEACAM5	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMNWVRQA PGKGLEWVSGISGSGGSTKY AESVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRADDTAVYYCAKDQ DINVWYGLFPYWGQGTITVTV	DIVLTQTPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPDDEFATYYCQQYNS YSPLTFGGGTKVDIK (SEQ ID NO:255)

		SS (SEQ ID NO:249) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMN (SEQ ID NO:250) (Kabat) CDR2: SGSGGS (SEQ ID NO:251) (Chothia) o GISGSGGSTKYAESVKG (SEQ ID NO:253) (Kabat) CDR3: DQDINVWYGLFPY (SEQ ID NO:254)	CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSPLT (SEQ ID NO:256)
66.	1079_A12-CEACAM5_VH Variante	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMNWVRQA PGKGLEWVSGISGSGGSTKY AESVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRADDTAVYYCAKDQ DINVWYGLFPYWGQGT LVT V SS (SEQ ID NO:257) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMN (SEQ ID NO:250) (Kabat) CDR2: SGSGGS (SEQ ID NO:251) (Chothia) o GISGSGGSTKYAESVKG (SEQ ID NO:253) (Kabat) CDR3: DQDINVWYGLFPY (SEQ ID NO:254)	DIVLTQTPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTE FTLTISSLQPD FAYYYCQQYNS YSPLTFGGG TKVDIK (SEQ ID NO:255) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSPLT (SEQ ID NO:256)
67.	1079_A12-CEACAM5 Secuencia Consenso	XVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMNWVRQA PGKGLEWVSGISGSGGSTKY AESVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRADDTAVYYCAKDQ DINVWYGLFPYWGQGT LVT V SS donde X es Q o E (SEQ ID NO:258) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMN (SEQ ID NO:250) (Kabat) CDR2: SGSGGS (SEQ ID	DIVLTQTPSSLSASVGDRVTITCR ASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTE FTLTISSLQPD FAYYYCQQYNS YSPLTFGGG TKVDIK (SEQ ID NO:255) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSPLT (SEQ ID NO:256)

		NO:251) (Chothia) o GISGSGGSTKYAESVKG (SEQ ID NO:253) (Kabat) CDR3: DQDINVWYGLFPY (SEQ ID NO:254)	
68.	1078_C04- CEACAM5	EVQLVESGGGVVQPGRSLRL SCAASGFTFSSSGMHVVRQA PGKGLEWVAVIWYDGSNKY YVDSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLR AEDTAVYYCARD GRQQLVQGSYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:259) CDR1: GFTFSSS (SEQ ID NO:260) (Chothia) o SSGMH (SEQ ID NO:261) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o VIWYDGSNKYYVDSVKG (SEQ ID NO:262) (Kabat) CDR3: DGRQQLVQGSYYYGMDV (SEQ ID NO:265)	EIVMTQSPSTLSASVGDRVTITCR ASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPDDFATYYCQQYKS YSYTFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:263) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYKSYSYT (SEQ ID NO:264)
69.	1080_F11- CEACAM5	QVQLVQSGGGLVQRGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLERVSGISGSGGNTYYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRADDTAVYYCARDQDI NVWYGLFAYWGQGLTVTS S (SEQ ID NO:266) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGGN (SEQ ID NO:267) (Chothia) o GISGSGGNTYYADSVKG (SEQ ID NO:268) (Kabat) CDR3: DQDINVWYGLFAY (SEQ ID NO:269)	DIVMTQTPSTLSASVGDRVTITC RASQSISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGT EFTLTISSLQPDDFATYYCQQYN SYFMYTFGQGGTKVEIK (SEQ ID NO:270) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYFMYT (SEQ ID NO:271)
70.	1080_F11- CEACAM5 _VH	EVQLVQSGGGLVQRGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLERVSGISGSGGNTYYA	DIVMTQTPSTLSASVGDRVTITC RASQSISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGT

	Variante	DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRADDTAVYYCARDQDI NVWYGLFAYWGQGLTVTS S (SEQ ID NO:272) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGGN (SEQ ID NO:267) (Chothia) o GISGSGGNTYYADSVKG (SEQ ID NO:268) (Kabat) CDR3: DQDINVWYGLFAY (SEQ ID NO:269)	EFTLTISLQPDDEFATYYCQQYN SYFMYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:270) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYFMYT (SEQ ID NO:271)
71.	1080_F11- CEACAM5 Secuencia Consenso	XVQLVQSGGGLVQRGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLERVSGISGSGGNTYYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRADDTAVYYCARDQDI NVWYGLFAYWGQGLTVTS S donde X es Q o E (SEQ ID NO:273) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGGN (SEQ ID NO:267) (Chothia) o GISGSGGNTYYADSVKG (SEQ ID NO:268) (Kabat) CDR3: DQDINVWYGLFAY (SEQ ID NO:269)	DIVMTQTPSTLSASVGDRVTITC RASQSISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGT EFTLTISLQPDDEFATYYCQQYN SYFMYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:270) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYFMYT (SEQ ID NO:271)
72.	1081_E01- CEACAM5	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLT CAVSGYSISSGYWGWIRQPP GKGLEWIGTIWHSYSTYDNPS LKSRTISVDTSKNQFSLKLSS VTTADTAVYYCARADSSGW YEDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:274) CDR1: GYSISSGY (SEQ ID NO:275) (Chothia) o SGYYWG	DIVMTQTPSTLSASVGDRVTITC RASQSISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYS TPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:280) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165)

		(SEQ ID NO:276) (Kabat) CDR2: WHSGS (SEQ ID NO:277) (Chothia) o TIWHSGSTYDNPSLKS (SEQ ID NO:278) (Kabat) CDR3: ADSSGWYEDY (SEQ ID NO:279)	CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQSYSTPLT (SEQ ID NO:233)
73.	1081_E01- CEACAM5 _VH Variante	EVQLQESGPGLVKPSSETLSLT CAVSGYSISSGYYWGWRQPP GKGLEWIGTIWHSGSTYDNPS LKSRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTTADTAVYYCARADSSGW YEDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:281) CDR1: GYSISSGY (SEQ ID NO:275) (Chothia) o SGYYWG (SEQ ID NO:276) (Kabat) CDR2: WHSGS (SEQ ID NO:277) (Chothia) o TIWHSGSTYDNPSLKS (SEQ ID NO:278) (Kabat) CDR3: ADSSGWYEDY (SEQ ID NO:279)	DIVMTQTPSTLSASVGDRVTITC RASQSISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYS TPLTFGGGTKEIK (SEQ ID NO:280) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQSYSTPLT (SEQ ID NO:233)
74.	1081_E01- CEACAM5 Secuencia Consenso	XVQLQESGPGLVKPSSETLSLT CAVSGYSISSGYYWGWRQPP GKGLEWIGTIWHSGSTYDNPS LKSRVTISVDTSKNQFSLKLSS VTTADTAVYYCARADSSGW YEDYWGQGTLLTVSS donde X es Q o E (SEQ ID NO:282) CDR1: GYSISSGY (SEQ ID NO:275) (Chothia) o SGYYWG (SEQ ID NO:276) (Kabat) CDR2: WHSGS (SEQ ID NO:277) (Chothia) o TIWHSGSTYDNPSLKS (SEQ ID NO:278) (Kabat) CDR3: ADSSGWYEDY (SEQ	DIVMTQTPSTLSASVGDRVTITC RASQSISSWLAWYQQKPGKAPK LLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDFATYYCQQSYS TPLTFGGGTKEIK (SEQ ID NO:280) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQSYSTPLT (SEQ ID NO:233)

		ID NO:279)	
75.	1083_A05-CEACAM5	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFIFSSYAMSWVRQA PGRGLEWVSGISGSGGSTNY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRADDTAVYFCAKDL DINVWYGLFDHWGQGTTVT VSS (SEQ ID NO:283) CDR1: GFIFSSY (SEQ ID NO:284) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGGS (SEQ ID NO:251) (Chothia) o GISGSGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO:252) (Kabat) CDR3: DLDINVWYGLFDH (SEQ ID NO:285)	DIQVTQSPSTLSASVGDRVITICR ASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPDDEFATYYCQQYNS YSTWTFGQGGTKLEIK (SEQ ID NO:286) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSTWT (SEQ ID NO:166)
76.	1083_A05-CEACAM5_VH Variante	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFIFSSYAMSWVRQA PGRGLEWVSGISGSGGSTNY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRADDTAVYFCAKDL DINVWYGLFDHWGQGTTVT VSS (SEQ ID NO:287) CDR1: GFIFSSY (SEQ ID NO:284) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGGS (SEQ ID NO:251) (Chothia) o GISGSGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO:252) (Kabat) CDR3: DLDINVWYGLFDH (SEQ ID NO:285)	DIQVTQSPSTLSASVGDRVITICR ASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPDDEFATYYCQQYNS YSTWTFGQGGTKLEIK (SEQ ID NO:286) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSTWT (SEQ ID NO:166)
77.	1083_A05-CEACAM5 Secuencia Consenso	XVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFIFSSYAMSWVRQA PGRGLEWVSGISGSGGSTNY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRADDTAVYFCAKDL DINVWYGLFDHWGQGTTVT VSS donde X es Q o E	DIQVTQSPSTLSASVGDRVITICR ASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPDDEFATYYCQQYNS YSTWTFGQGGTKLEIK (SEQ ID NO:286) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID

		(SEQ ID NO:289) CDR1: GFIFSSY (SEQ ID NO:284) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGGS (SEQ ID NO:251) (Chothia) o GISGSGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO:252) (Kabat) CDR3: DLDINVWYGLFDH (SEQ ID NO:285)	NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSTWT (SEQ ID NO:166)
78.	1085_D12-CEACAM5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFIFSSYAMNWVRQA PGRGLEWVSGISGSGGSTNY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRADDTAVYFCARDQ DINVWYGLFVYWGQGLVT VSS (SEQ ID NO:288) CDR1: GFIFSSY (SEQ ID NO:284) (Chothia) o SYAMN (SEQ ID NO:250) (Kabat) CDR2: SGSGGS (SEQ ID NO:251) (Chothia) o GISGSGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO:252) (Kabat) CDR3: DQDINVWYGLFVY (SEQ ID NO:290)	DIRLTQSPSTLSASVGDRVTITCR ASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTE FTLTISSMQPDDFATYYCQQYNS YSTWTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:291) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSTWT (SEQ ID NO:166)
79.	1079_G12-CEACAM5	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMNWVRQA PGKGLEWVSVISGNGGYTHY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEGTAVYYCAKDD WGGAFDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:292) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMN (SEQ ID NO:250) (Kabat) CDR2: SGNGGY (SEQ ID NO:293) (Chothia) o VISGNGGYTHYADSVKG (SEQ ID NO:294) (Kabat)	DIVMTQTPSSLSASVGDRVTITC RASQGISNYLAWYQQKPGKVPK LLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDVATYYCQKYN SAPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:296) CDR1: RASQGISNYLA (SEQ ID NO:127) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QKYNSAPRT (SEQ ID NO:297)

		CDR3: DDWGGAFDI (SEQ ID NO:295)	
80.	1079_G12-CEACAM5_VH Variante	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMNWVRQA PGKGLEWVSVISGNGGYTHY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEGTAVYYCAKDD WGGAFDIWGQGT TTVTVSS (SEQ ID NO:298) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMN (SEQ ID NO:250) (Kabat) CDR2: SGNGGY (SEQ ID NO:293) (Chothia) o VISGNGGYTHYADSVKG (SEQ ID NO:294) (Kabat) CDR3: DDWGGAFDI (SEQ ID NO:295)	DIVMTQTPSSLSASVGDRVTITC RASQGISNYLAWYQQKPGKVPK LLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDVATYYCQKYN SAPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:296) CDR1: RASQGISNYLA (SEQ ID NO:127) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QKYNSAPRT (SEQ ID NO:297)
81.	1080_A01-CEACAM5	EVQLVQSGGGLVQPGGSVRL SCAASGFTFSSYAMNWVRQG PGKGLEWVSVISGNGGYTHY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRADDTAVYYCAKDD WGGAFDIWGQGT MVTVSS (SEQ ID NO:299) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMN (SEQ ID NO:250) (Kabat) CDR2: SGNGGY (SEQ ID NO:293) (Chothia) o VISGNGGYTHYADSVKG (SEQ ID NO:294) (Kabat) CDR3: DDWGGAFDI (SEQ ID NO:295)	DIRMTQSPSSLSASVGDRVTITCR ASQGISNYLAWYQQKPGKVPKL LIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGT DFTLTISLQPEDVATYYCQKYN SAPRTFGQGTKVDIK (SEQ ID NO:300) CDR1: RASQGISNYLA (SEQ ID NO:127) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QKYNSAPRT (SEQ ID NO:297)
82.	VH [1079_G12-CEACAM] y Secuencia Consenso VL [1079_G12-	XVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMNWVRQA PGKGLEWVSVISGNGGYTHY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEGTAVYYCAKDD WGGAFDIWGQGT TTVTVSS donde X es Q o E	DIX₁MTQX₂PSSLSASVGDRVTIT CRASQGISNYLAWYQQKPGKVP KLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDVATYYCQK YNSAPRTFGQGTKVX₃IK donde X₁ es V o R, X₂ es S o T y X₃ es K o R

	CEACAM; 1080_A01- CEACAM5]	(SEQ ID NO:301) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMN (SEQ ID NO:250) (Kabat) CDR2: SGNGGY (SEQ ID NO:293) (Chothia) o VISGNGGYTHYADSVKG (SEQ ID NO:294) (Kabat) CDR3: DDWGGAFDI (SEQ ID NO:295)	(SEQ ID NO:302) CDR1: RASQGISNYLA (SEQ ID NO:127) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QKYNSAPRT (SEQ ID NO:297)
83.	VH [1080_A01- CEACAM5] y Secuencia Consenso VL [1079_G12- CEACAM; 1080_A01- CEACAM5]	EVQLVQSGGGLVQPGGSVRL SCAASGFTFSSYAMNWVRQG PGKGLEWVSVISGNGGYTHY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNGLRADDTAVYYCAKDD WGGAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:299) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMN (SEQ ID NO:250) (Kabat) CDR2: SGNGGY (SEQ ID NO:293) (Chothia) o VISGNGGYTHYADSVKG (SEQ ID NO:294) (Kabat) CDR3: DDWGGAFDI (SEQ ID NO:295)	DIX ₁ MTQX ₂ PSSLSASVGDRVTIT CRASQGISNYLAWYQQKPGKVP KLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISLQPEDVATYYCQK YNSAPRTFGQGTKVX ₃ IK donde X ₁ es V o R, X ₂ es S o T y X ₃ es K o R (SEQ ID NO:302) CDR1: RASQGISNYLA (SEQ ID NO:127) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QKYNSAPRT (SEQ ID NO:297)
84.	12C7.A2- CEACAM5 -B.01	QVQLVESGGGVVQPGRSLRL SCAASGFTFSNYAMHWVRQ APGKGLEWVTLIWYDGSKKY YADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARD RAIPLIAPYFDYWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO:303) CDR1: GFTFSNY (SEQ ID NO:304)(Chothia) o NYAMH (SEQ ID NO:305) (Kabat) CDR2: WYDGSK (SEQ ID NO:306) (Chothia) o LIWYDGSKKYYADSVKG (SEQ ID NO:307) (Kabat)	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASQGISSYLAWYQQKPGKAPKL LIFPASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPEDFATYYCQQLNFF PPTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:309) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: PASTLQS (SEQ ID NO:310) CDR3: QQLNFFPPT (SEQ ID NO:311)

		CDR3: DRAIPLIAPYFDY (SEQ ID NO:308)	
85.	12C7.A2-CEACAM5-B.01_VH Variante	EVQLVESGGGVVQPGRSLRL SCAASGFTFSNYAMHWVRQ APGKGLEWVTLIWYDGSKKY YADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARD RAIPLIAPYFDYWGQGT LVTV SS (SEQ ID NO:312) CDR1: GFTFSNY (SEQ ID NO:304) (Chothia) o NYAMH (SEQ ID NO:305) (Kabat) CDR2: WYDGSK (SEQ ID NO:306) (Chothia) o LIWYDGSKKYYADSVKG (SEQ ID NO:307) (Kabat) CDR3: DRAIPLIAPYFDY (SEQ ID NO:308)	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASQGISSYLA WYQQKPGKAPKL LIFPASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FTLTISSLQPEDFATYYCQQLNFF PPTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:309) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: PASTLQS (SEQ ID NO:310) CDR3: QQLNFFPPT (SEQ ID NO:311)
86.	12C7.A2-CEACAM5-B.01 Secuencia Consenso	XVQLVESGGGVVQPGRSLRL SCAASGFTFSNYAMHWVRQ APGKGLEWVTLIWYDGSKKY YADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARD RAIPLIAPYFDYWGQGT LVTV SS donde X es Q o E (SEQ ID NO:313) CDR1: GFTFSNY (SEQ ID NO:304) (Chothia) o NYAMH (SEQ ID NO:305) (Kabat) CDR2: WYDGSK (SEQ ID NO:306) (Chothia) o LIWYDGSKKYYADSVKG (SEQ ID NO:307) (Kabat) CDR3: DRAIPLIAPYFDY (SEQ ID NO:308)	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASQGISSYLA WYQQKPGKAPKL LIFPASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FTLTISSLQPEDFATYYCQQLNFF PPTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:309) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: PASTLQS (SEQ ID NO:310) CDR3: QQLNFFPPT (SEQ ID NO:311)
87.	12C7.A2-CEACAM5-B.01_VH2	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLT CTVSGGPIYSYWSWIRQPPG KGLEWIGFIYSSGSTNYNPSL KSRVTISIDTSKSQFSLRLSSV TAADTAVYYCARGGDAFDI	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASQGISSYLA WYQQKPGKAPKL LIFPASTLQSGVPSRFSGSGSGTE FTLTISSLQPEDFATYYCQQLNFF PPTFGPGTKVDIK (SEQ ID

		WGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:691) CDR1: GGPIYSY (SEQ ID NO:315) (Chothia) o SYYSWS (SEQ ID NO:316) (Kabat) CDR2: YSSGS (SEQ ID NO:317) (Chothia) o FIYSSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:318) (Kabat) CDR3: GGDAFDI (SEQ ID NO:319)	NO:309) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: PASTLQS (SEQ ID NO:310) CDR3: QQLNFFPPT (SEQ ID NO:311)
88.	12A6.H2-CEACAM5-B.01	QVQLVESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGPIYSYYSWIRQPPGKGLEWIGFIYSSGSTNYPNPSLKSRVTISIDTSKSQFSLRLSSVTAADTAVYYCARGGDAFDI WGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:314) CDR1: GGPIYSY (SEQ ID NO:315) (Chothia) o SYYSWS (SEQ ID NO:316) (Kabat) CDR2: YSSGS (SEQ ID NO:317) (Chothia) o FIYSSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:318) (Kabat) CDR3: GGDAFDI (SEQ ID NO:319)	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKL LIFPASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNFFPPTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:309) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: PASTLQS (SEQ ID NO:310) CDR3: QQLNFFPPT (SEQ ID NO:311)
89.	12A6.H2-CEACAM5-B.01_VH Variante	EVQLVESGPGGLVKPSETLSLTCTVSGGPIYSYYSWIRQPPGKGLEWIGFIYSSGSTNYPNPSLKSRVTISIDTSKSQFSLRLSSVTAADTAVYYCARGGDAFDI WGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:320) CDR1: GGPIYSY (SEQ ID NO:315) (Chothia) o SYYSWS (SEQ ID NO:316) (Kabat) CDR2: YSSGS (SEQ ID NO:317) (Chothia) o FIYSSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:318) (Kabat)	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKL LIFPASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNFFPPTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:309) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: PASTLQS (SEQ ID NO:310) CDR3: QQLNFFPPT (SEQ ID NO:311)

		NO:318) (Kabat) CDR3: GGDAFDI (SEQ ID NO:319)	
90.	12A6.H2-CEACAM5-B.01 Secuencia Consenso	XVQLVESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGPIYSYYSWIRQPPGKGLEWIGFIYSSGSTNYPNPSLKSRVTISIDTSKSQFSLRLSSVTAADTAVYYCARGGDAFDIWGQGTMTVTSS donde X es Q o E (SEQ ID NO:321) CDR1: GGPIYSY (SEQ ID NO:315) (Chothia) o SYYSWS (SEQ ID NO:316) (Kabat) CDR2: YSSGS (SEQ ID NO:317) (Chothia) o FIYSSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:318) (Kabat) CDR3: GGDAFDI (SEQ ID NO:319)	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLIFPASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQLNFFPPTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:309) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: PASTLQS (SEQ ID NO:310) CDR3: QQLNFFPPT (SEQ ID NO:311)
91.	4G3.C3-CEACAM5-B.01	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLSSYYYSWIRQPPGKGLEWLGYIYSSGSVNYPNPSLKSRVTMSIDTSQNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDADYFDYWGQGTSLTVSS (SEQ ID NO:322) CDR1: GGSLSSY (SEQ ID NO:323) (Chothia) o SYYSWS (SEQ ID NO:316) (Kabat) CDR2: YSSGS (SEQ ID NO:317) (Chothia) o YIYSSGSVNYPNPSLKS (SEQ ID NO:324) (Kabat) CDR3: DADYFDY (SEQ ID NO:325)	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGTSSYLAWYQQKPGKAPKLIIYAVSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPTDFATYYCQQVIRYPPTFGQGTKVEVK (SEQ ID NO:326) CDR1: RASQGTSSYLA (SEQ ID NO:327) CDR2: AVSTLQS (SEQ ID NO:328) CDR3: QQVIRYPPT (SEQ ID NO:329)
92.	4G3.C3-CEACAM5-B.01_VH Variante	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLSSYYYSWIRQPPGKGLEWLGYIYSSGSVNYPNPSLKSRVTMSIDTSQNQFSLKLSS	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGTSSYLAWYQQKPGKAPKLIIYAVSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPTDFATYYCQQVIRY

		VTAADTAVYYCARDADYFD YWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:330) CDR1: GGSLSY (SEQ ID NO:323) (Chothia) o SYYS (SEQ ID NO:316) (Kabat) CDR2: YSSGS (SEQ ID NO:317) (Chothia) o YIYSSGSVNYPNPSLKS (SEQ ID NO:324) (Kabat) CDR3: DADYFDY (SEQ ID NO:325)	PPTFGQGTKVEVK (SEQ ID NO:326) CDR1: RASQGTSSYLA (SEQ ID NO:327) CDR2: AVSTLQS (SEQ ID NO:328) CDR3: QQVIRYPPT (SEQ ID NO:329)
93.	4G3.C3- CEACAM5 -B.01 Secuencia Consenso	XVQLQESGPGLVKPSSETLSLT CTVSGGSLSSYYWSWIRQPPG KGLEWLGYYSSGSVNYPNPSL KSRVTMSIDTSQNQFSLKLSS VTAADTAVYYCARDADYFD YWGQGTLLTVSS donde X es Q o E (SEQ ID NO:331) CDR1: GGSLSY (SEQ ID NO:323) (Chothia) o SYYS (SEQ ID NO:316) (Kabat) CDR2: YSSGS (SEQ ID NO:317) (Chothia) o YIYSSGSVNYPNPSLKS (SEQ ID NO:324) (Kabat) CDR3: DADYFDY (SEQ ID NO:325)	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCR ASQGTSSYLAWYQQKPGKAPKL LIYAVSTLQSGVPSRFSGSGSGTE FTLTISLQPTDFATYYCQQVIRY PPTFGQGTKVEVK (SEQ ID NO:326) CDR1: RASQGTSSYLA (SEQ ID NO:327) CDR2: AVSTLQS (SEQ ID NO:328) CDR3: QQVIRYPPT (SEQ ID NO:329)
94.	6D10.C8- CEACAM5 -B.02_VH y 6D10.C8- CEACAM5 -B.02_VL	QIQLVQSGPELKKPGETVKIS CKASGYTFTNYGMNWVKQA PGKGLKWMGWINTYTGEPT YTDDFKGRFAFSLETSASTAY LQITNLKNEDTATYFCARGD GFDRGFAYWGQGTLLTVSA (SEQ ID NO:692) CDR1: GYTFTNY (SEQ ID NO:693) (Chothia) o NYGMN (SEQ ID NO:694) (Kabat) CDR2: NTYTGE (SEQ ID	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTLTCS PSSSVTYMHYQQKSGTSPKRW IYDTSKLASGVPARFSGIGSGTSY SLTINSMEAEDAATYYCQQWNN YPYTFGGGTRLEIT (SEQ ID NO:698) CDR1: SPSSSVTYMH (SEQ ID NO:658) CDR2: DTSKLAS (SEQ ID NO:659)

		NO:695) (Chothia) o WINTYTGEPTYTDDFKG (SEQ ID NO:696) (Kabat) CDR3: GDGFDRGFAY (SEQ ID NO:697)	CDR3: QQWNNYPYT (SEQ ID NO:660)
--	--	--	------------------------------------

Tabla 4. Secuencias de sitios de unión a antígeno ilustrativas que se unen a CEACAM5

Clon	Variante	VH	VL
Nivel 1			
Clon PH_420- CEACAM 5	Clon PH_420- CEACAM 5	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNSGGSTYY ADSVKGRFTVSRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTALYYCAKDL GGYNYGLFDYWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO: 719) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNSGGS (SEQ ID NO:4) (Chothia) o AIFNSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:5) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	DIRMTQSPSTLSASVGDRVIT CWASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDFFATY YCQQYNSYSYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:10) CDR1: WASQSISSWLA (SEQ ID NO:7) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSYT (SEQ ID NO:9)
Clon PH_420- CEACAM 5	PH_420- CEACAM 5_VH_ Variante 1 (QE)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNSGGSTYY ADSVKGRFTVSRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTALYYCAKDL GGYNYGLFDYWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO:11) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNSGGS (SEQ ID NO:4) (Chothia) o AIFNSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:5) (Kabat)	

		CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	
Clon PH_420- CEACAM 5	PH_420- CEACAM 5_ VH_ Variante 2 (QE, SA)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNAGGSTYY ADSVKGRFTVSRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTALYYCAKDL GGYNYGLFDYWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO:12) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3)(Kabat) CDR2: FNAGGS (SEQ ID NO:13) (Chothia) o AIFNAGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:14) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	
Clon PH_420- CEACAM 5	PH_420- CEACAM 5_ VH_ Variante 3 (QE, SA)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNSGGSTYY ADAVKGRFTVSRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTALYYCAKDL GGYNYGLFDYWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO:15) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNSGGS (SEQ ID NO:4) (Chothia) o AIFNSGGSTYYADAVKG (SEQ ID NO:16) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	
Clon PH_420- CEACAM 5	PH_420- CEACAM 5_ VH_ Variante 4 (QE, SA)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNSGGSTYY ADSVKGRFTVSRDNAKNTLY LQMNSLRAEDTALYYCAKDL GGYNYGLFDYWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO:17)	

		CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNSGGS (SEQ ID NO:4) (Chothia) o AIFNSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:5) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	
Clon PH_420-CEACAM 5	PH_420-CEACAM 5_ VH_ Variante 5 (QE, NQ)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNSGGSTYY ADSVKGRFTVSRDNSKQTLY LQMNSLRAEDTALYYCAKDL GGNYNYGLFDYWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO:18) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNSGGS (SEQ ID NO:4) (Chothia) o AIFNSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:5) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	
Clon PH_420-CEACAM 5	PH_420-CEACAM 5_ VH_ Variante 6 (QE, NQ)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNSGGSTYY ADSVKGRFTVSRDNSKNTLY LQMQLRAEDTALYYCAKDL GGNYNYGLFDYWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO:19) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNSGGS (SEQ ID NO:4) (Chothia) o AIFNSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:5) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY	

		(SEQ ID NO:6)	
Clon PH_420- CEACAM 5	PH_420- CEACAM 5_VH_ Variante 7 (QE, SA,SA)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNAGGSTYY ADAVKGRFTVSRDNSKNTLY LQMNSLRAEDTALYYCAKDL GGYNYGLFDYWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO:20) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNAGGS (SEQ ID NO:13) (Chothia) o AIFNAGGSTYYADAVKG (SEQ ID NO:21) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	
	PH_420- CEACAM 5_VH_ Variante 8 (QA, SA, SA, SA)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNAGGSTYY ADAVKGRFTVSRDNAKNTLY LQMNSLRAEDTALYYCAKDL GGYNYGLFDYWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO:22) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNAGGS (SEQ ID NO:13) (Chothia) o AIFNAGGSTYYADAVKG (SEQ ID NO:21) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	
Clon PH_420- CEACAM 5	PH_420- CEACAM 5_VH_ Variante 9 (QE, SA, SA, SA, NQ)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNAGGSTYY ADAVKGRFTVSRDNAKQTLTY LQMNSLRAEDTALYYCAKDL GGYNYGLFDYWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO:23) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID	

		NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNAGGS (SEQ ID NO:13) (Chothia) o AIFNAGGSTYYADAVKG (SEQ ID NO:21) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	
Clon PH_420-CEACAM 5	PH_420-CEACAM 5_ VH_ Variante 10 (QE, SA, SA, SA, NQ, NQ)	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAIFNAGGSTYY ADAVKGRFTVSRDNAKQTLY LQMQLRAEDTALYYCAKDL GGNYNYGLFDYWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO:24) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FNAGGS (SEQ ID NO:13) (Chothia) o AIFNAGGSTYYADAVKG (SEQ ID NO:21) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6)	
Clon PH_420-CEACAM 5	PH_420-CEACAM 5_ VL_ Variante 1 (DN)		DIRMTQSPSTLSASVGDRVITIT CWASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDNFATY YCQQYNSYSYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO:25) CDR1: WASQSISSWLA (SEQ ID NO:7) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSYT (SEQ ID NO:9)
Clon PH_420-CEACAM 5	PH_420-CEACAM 5_ VL_ Variante 2		DIRMTQSPSTLSASVGDRVITIT CWASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDNFATY

	(SA)		YCQQYNAYSYTFGQGGTKLEIK (SEQ ID NO:26) CDR1: WASQSISSWLA (SEQ ID NO:7) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNAYSYT (SEQ ID NO:27)
Clon PH_420-CEACAM 5	PH_420-CEACAM 5_VL_Variante 3 (DN, SA)		DIRMTQSPSTLSASVGDRVITIT CWASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDNFATY YCQQYNAYSYTFGQGGTKLEIK (SEQ ID NO:28) CDR1: WASQSISSWLA (SEQ ID NO:7) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNAYSYT (SEQ ID NO:27)
Clon PH_420-CEACAM 5	PH_420-CEACAM 5_VL_Variante 4 (R(L3)Q)		DIQMTQSPSTLSASVGDRVITIT CWASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDNFATY YCQQYNSYSYTFGQGGTKLEIK (SEQ ID NO:637) CDR1: WASQSISSWLA (SEQ ID NO:7) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSYT (SEQ ID NO:9)
Clon 1078_C04 CEACAM 5_VH	Clon 1078_C04 CEACAM 5_VH	QVQLVQSGGGLVQPGGSQRL SCAASGFTFTSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGTGDSFTYA DSVKGRFTFSRDNSKNTLYL QMNSLR AEDTAVYYCAKDL GWLQYGLFDYWGQGT LTV SS (SEQ ID NO:34)	DIQLTQSPATLSVSPGERATLS CRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLIYGASSRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQYNNWPLTFGGGTKVE IK (SEQ ID NO:39)

		CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGDS (SEQ ID NO:36) (Chothia) o AISGTGDSTFYADSVKG (SEQ ID NO:37) (Kabat) CDR3: DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38)	CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)
Clon 1078_C04 CEACAM 5_VH	1078_C04 CEACAM 5_VH_Variante 1 (QE)	EVQLVQSGGGLVQPGGSQRL SCAASGFTFTSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGTGDSTFYA DSVKGRFTFSRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKDL GWLQYGLFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:43) CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGDS (SEQ ID NO:36) (Chothia) o AISGTGDSTFYADSVKG (SEQ ID NO:37) (Kabat) CDR3: DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38)	DIQLTQSPATLSVSPGERATLS CRASQSVSSSYLAWEYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQYNNWPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:39) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)
Clon 1078_C04 CEACAM 5_VH	1078_C04 CEACAM 5_VH_Variante 2 (QE, DE)	EVQLVQSGGGLVQPGGSQRL SCAASGFTFTSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGTGESTFYA DSVKGRFTFSRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKDL GWLQYGLFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:44) CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGES (SEQ ID NO:45) (Chothia) o AISGTGESTFYADSVKG (SEQ ID NO:46) (Kabat) CDR3: DLGWLQYGLFDY	DIQLTQSPATLSVSPGERATLS CRASQSVSSSYLAWEYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQYNNWPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:39) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)

		(SEQ ID NO:38)	
Clon 1078_C04 CEACAM 5_VH	1078_C04 CEACAM 5_VH_ Variante 3 (QE, SA)	EVQLVQSGGGLVQPGGSQRL SCAASGFTFTSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGTGDSTFYA DAVKGRFTFSRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKDL GWLQYGLFDYWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO:47) CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGDS (SEQ ID NO:36) (Chothia) o AISGTGDSTFYADAVKG (SEQ ID NO:48) (Kabat) CDR3: DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38)	DIQLTQSPATLSVSPGERATLS CRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQYNNWPLTFGGGTKVE IK (SEQ ID NO:39) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)
Clon 1078_C04 CEACAM 5_VH	1078_C04 CEACAM 5_VH_ Variante 4 (QE, DE)	EVQLVQSGGGLVQPGGSQRL SCAASGFTFTSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGTGDSTFYA DSVKGRFTFSRENSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKDLG WLQYGLFDYWGQGTLVTVS S (SEQ ID NO:49) CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGDS (SEQ ID NO:36) (Chothia) o AISGTGDSTFYADSVKG (SEQ ID NO:37) (Kabat) CDR3: DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38)	DIQLTQSPATLSVSPGERATLS CRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQYNNWPLTFGGGTKVE IK (SEQ ID NO:39) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)
Clon 1078_C04 CEACAM 5_VH	1078_C04 CEACAM 5_VH_ Variante 5 (QE, SA)	QVQLVQSGGGLVQPGGSQRL SCAASGFTFTSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGTGDSTFYA DSVKGRFTFSRDNAKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKDL GWLQYGLFDYWGQGTLVTV SS (SEQ ID NO:50) CDR1: GFTFTSY (SEQ ID	DIQLTQSPATLSVSPGERATLS CRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQYNNWPLTFGGGTKVE IK (SEQ ID NO:39) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ

		NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGDS (SEQ ID NO:36) (Chothia) o AISGTGDSTFYADSVKG (SEQ ID NO:37) (Kabat) CDR3: DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38)	ID NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)
Clon 1078_C04 CEACAM 5_VH	1078_C04 CEACAM 5_VH_Variante 6 (QE, SA)	EVQLVQSGGGLVQPGGSQRL SCAASGFTFTSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGTGDSTFYA DSVKGRFTFSRDNSKNTLYL QMNALRAEDTAVYYCAKDL GWLQYGLFDYWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:51) CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGDS (SEQ ID NO:36) (Chothia) o AISGTGDSTFYADSVKG (SEQ ID NO:37) (Kabat) CDR3: DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38)	DIQLTQSPATLSVSPGERATLS CRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQYNNWPLTFGGGTKVE IK (SEQ ID NO:39) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)
Clon 1078_C04 CEACAM 5_VH	1078_C04 CEACAM 5_VH_Variante 7 (Q(H18)L)	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFTSYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISGTGDSTFYA DSVKGRFTFSRDNSKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAKDL GWLQYGLFDYWGQGTLLTV SS (SEQ ID NO:638) CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGDS (SEQ ID NO:36) (Chothia) o AISGTGDSTFYADSVKG (SEQ ID NO:37) (Kabat) CDR3: DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38)	DIQLTQSPATLSVSPGERATLS CRASQSVSSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAV YYCQQYNNWPLTFGGGTKVE IK (SEQ ID NO:39) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)

Clon 1079_H05 CEACAM 5_VH	Clon 1079_H05 CEACAM 5_VH	QVQLQESGPGLV RPSGTL SLT CAVSGGSISSPTWWSWVRQP PGKGLEWIG EIHPSGR TNYNP SLKSRVTISVDKSKNQFSLKL GSVTAADTAVYYCAREGFYY GSGNYYYYFDYWGQGT LVTV SS (SEQ ID NO:55) CDR1: GGSISSPT (SEQ ID NO:56) (Chothia) o SPTWWS (SEQ ID NO:57) (Kabat) CDR2: HPSGR (SEQ ID NO:58) (Chothia) o EIHPSGR TNYNP SLKS (SEQ ID NO:59) (Kabat) CDR3: EGFYYGSGNYYYYFDY (SEQ ID NO:60)	DIVMTQTPATLSASVGDRV TI TCRASQSVRSNLAWYQQKPG QAPRL LIYGASTRATGIPARFS GSGSGTEFTLT ISSLQSEDFAV YYCQQYNNWPTFGQGTRLEI K (SEQ ID NO:61) CDR1: RASQSVRSNLA (SEQ ID NO:62) CDR2: GASTRAT (SEQ ID NO:63) CDR3: QQYNNWPT (SEQ ID NO:64)
Clon 1079_H05 CEACAM 5_VH	1079_H05 CEACAM 5_VH _Variante 1 (QE)	EVQLQESGPGLV RPSGTL SLT CAVSGGSISSPTWWSWVRQP PGKGLEWIG EIHPSGR TNYNP SLKSRVTISVDKSKNQFSLKL GSVTAADTAVYYCAREGFYY GSGNYYYYFDYWGQGT LVTV SS (SEQ ID NO:65) CDR1: GGSISSPT (SEQ ID NO:56) (Chothia) o SPTWWS (SEQ ID NO:57) (Kabat) CDR2: HPSGR (SEQ ID NO:58) (Chothia) o EIHPSGR TNYNP SLKS (SEQ ID NO:59) (Kabat) CDR3: EGFYYGSGNYYYYFDY (SEQ ID NO:60)	DIVMTQTPATLSASVGDRV TI TCRASQSVRSNLAWYQQKPG QAPRL LIYGASTRATGIPARFS GSGSGTEFTLT ISSLQSEDFAV YYCQQYNNWPTFGQGTRLEI K (SEQ ID NO:61) CDR1: RASQSVRSNLA (SEQ ID NO:62) CDR2: GASTRAT (SEQ ID NO:63) CDR3: QQYNNWPT (SEQ ID NO:64)
7A10.A7- CEACAM 5-B.01	7A10.A7- CEACAM 5-B.01	QVQLVESGGDVVQPGRSLRL SCAASGFILSNYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVSRHFDWHY YYGMDVWG QGTTVT TVSS (SEQ ID NO:67) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH	EIVMTQSPLSLPVT PGEPASISC RSSQSL LHSNGYNYLDWYLQ KPGQSPQL LISLGSIRASGVPD RFSGSGSGTNFTLTISRVEAED VGFYYCMQALQTPRTFGQGT KVDIT (SEQ ID NO:73) CDR1: RSSQSL LHSNGYNYLD (SEQ ID NO:74) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID

		(SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
7A10.A7-CEACAM 5-B.01	7A10.A7-CEACAM 5-B.01_VH _Variante 1_(QE)	EVQLVESGGDVVQPGRSLRL SCAASGFILSNYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVSRRHFDWHYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:77) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	
7A10.A7-CEACAM 5-B.01	7A10.A7-CEACAM 5-B.01_VH _Variante 2_(QE, ST)	EVQLVESGGDVVQPGRSLRL SCAASGFILSNYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDTVKGRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVSRRHFDWHYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:78) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDTVKG (SEQ ID NO:79) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV	

		(SEQ ID NO:72)	
7A10.A7-CEACAM 5-B.01	7A10.A7-CEACAM 5-B.01_VH _Variante 3_(QE, NQ)	EVQLVESGGDVVQPGRSLRL SCAASGFILSNYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISRQSKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVSRRHFDWHYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:80) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	
7A10.A7-CEACAM 5-B.01	7A10.A7-CEACAM 5-B.01_VH _Variante 4_(QE, NQ)	EVQLVESGGDVVQPGRSLRL SCAASGFILSNYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISRDNQSKQTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVSRRHFDWHYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:81) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	
7A10.A7-CEACAM 5-B.01	7A10.A7-CEACAM 5-B.01_VH _Variante 5_(QE, NQ)	QVQLVESGGDVVQPGRSLRL SCAASGFILSNYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISRDNQSKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVSRRHFDWHYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:82)	

		CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	
7A10.A7-CEACAM 5-B.01	7A10.A7-CEACAM 5-B.01 _VH _Variante 6_(QE,ST, NQ, NQ, NQ)	EVQLVESGGDVVQPGRSLRL SCAASGFILSNYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDTVKGRFTISRQSKQTL YLQMQLRAEDTAVYYCARE RVSRRHFDWHYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:83) CDR1: GFILSNY (SEQ ID NO:68) (Chothia) o NYGMH (SEQ ID NO:69) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDTVKG (SEQ ID NO:79) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	
7A10.A7-CEACAM 5-B.01	7A10.A7-CEACAM 5-B.01-N(L70)D VL		EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC RSSQSLLSNGYNYLDWYLQ KPGQSPQLLISLGSIRASGVPD RFSGSGSGTDFTLTISRVEAED VGFYYCMQALQTPRTFGQGT KVDIT (SEQ ID NO:84) CDR1: RSSQSLLSNGYNYLD (SEQ ID NO:74) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)

7A10.A7- CEACAM 5-B.01	7A10.A7- CEACAM 5-B.01- N(L70)Q VL		EIVMTQSPLSLPVTGPGEASISC RSSQSLLHSNGYNYLDWYLQ KPGQSPQLLISLGSIRASGVPD RFSGSGSGTQFTLTISRVEAED VGFYYCMQALQTPRTFGQGT KVDIT (SEQ ID NO:85) CDR1: RSSQSLLHSNGYNYLD (SEQ ID NO:74) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
7A10.A7- CEACAM 5-B.01	7A10.A7- CEACAM 5-B.01 _VL _Variante 1_(TA)		EIVMTQSPLSLPVTGPGEASISC RSSQSLLHSNGYNYLDWYLQ KPGQSPQLLISLGSIRASGVPD RFSGSGSGTNFALTISRVEAED VGFYYCMQALQTPRTFGQGT KVDIT (SEQ ID NO:86) CDR1: RSSQSLLHSNGYNYLD (SEQ ID NO:74) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
7A10.A7- CEACAM 5-B.01	7A10.A7- CEACAM 5-B.01- N(L70)D,N (L28)S VL		EIVMTQSPLSLPVTGPGEASISC RSSQSLLHSSGYNYLDWYLQ KPGQSPQLLISLGSIRASGVPD RFSGSGSGTDFTLTISRVEAED VGFYYCMQALQTPRTFGQGT KVDIT (SEQ ID NO:631) CDR1: RSSQSLLHSSGYNYLD (SEQ ID NO:632) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
7A10.A7- CEACAM	7A10.A7- CEACAM		EIVMTQSPLSLPVTGPGEASISC RSSQSLLHSQGYNYLDWYLQ

5-B.01	5-B.01- N(L70)D,N (L28)Q VL		KPGQSPQLLISLGSIRASGVPD RFSGSGSGTDFTLTISRVEAED VGFYYCMQALQTPRTFGQGT KVDIT (SEQ ID NO:633) CDR1: RSSQSLLSQGYNYLD (SEQ ID NO:634) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
7A10.A7- CEACAM 5-B.01	7A10.A7- CEACAM 5-B.01- N(L70) D,G (L29)A VL		EIVMTQSPLSLPVTGPASISC RSSQSLLSNAYNYLDWYLQ KPGQSPQLLISLGSIRASGVPD RFSGSGSGTDFTLTISRVEAED VGFYYCMQALQTPRTFGQGT KVDIT (SEQ ID NO:635) CDR1: RSSQSLLSNAYNYLD (SEQ ID NO:636) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
8H2.B10- CEACAM 5-B.01	8H2.B10- CEACAM 5-B.01	QVQLVESGGDVVQPGSLRL SCAASGFTLSSYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISRDNKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVSRHFDWHYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:90) CDR1: GFTLSSY (SEQ ID NO:91) (Chothia) o SYGMH (SEQ ID NO:92) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV	EIVMTQSPLSLPVTGPASISC RSSQSLLSHYNGYNYLDWYLQ KPGQSPQLLISLGSIRASGVPD RFSGSGSGTNFTLTISRVEAED VGFYYCMQALQTPRTFGQGT KVDIT (SEQ ID NO:93) CDR1: RSSQSLLSHYNGYNYLD (SEQ ID NO:94) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)

		(SEQ ID NO:72)	
8H2.B10-CEACAM 5-B.01	8H2.B10-CEACAM 5-B.01-N(L70)D VL		EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC RSSQSLHYNGYNYLDWYLQ KPGQSPQLLISLGSIRASGVPD RFSGSGSGTDFTLTISRVEAED VGFYYCMQALQTPRTFGQGT KVDIT (SEQ ID NO:95) CDR1: RSSQSLHYNGYNYLD (SEQ ID NO:94) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
8H2.B10-CEACAM 5-B.01	8H2.B10-CEACAM 5-B.01-N(L70)Q VL		EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC RSSQSLHYNGYNYLDWYLQ KPGQSPQLLISLGSIRASGVPD RFSGSGSGTQFTLTISRVEAED VGFYYCMQALQTPRTFGQGT KVDIT (SEQ ID NO:96) CDR1: RSSQSLHYNGYNYLD (SEQ ID NO:94) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)
8H2.B10-CEACAM 5-B.01	8H2.B10-CEACAM 5-B.01-T(L72)A VL		EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC RSSQSLHYNGYNYLDWYLQ KPGQSPQLLISLGSIRASGVPD RFSGSGSGTNFALTISRVEAED VGFYYCMQALQTPRTFGQGT KVDIT (SEQ ID NO:97) CDR1: RSSQSLHYNGYNYLD (SEQ ID NO:94) CDR2: LGSIRAS (SEQ ID NO:75) CDR3: MQALQTPRT (SEQ ID NO:76)

8H2.B10-CEACAM 5-B.01	VH_8H2.B10-CEACAM 5-B.01 (QH1E)	EVQLVESGGDVVQPGRSLRL SCAASGFTLSSYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVS RHFDWHY YYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:332) CDR1: GFTLSSY (SEQ ID NO:91) (Chothia) o SYGMH (SEQ ID NO:92) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVS RHFDWHY YYGMDV (SEQ ID NO:72)	
8H2.B10-CEACAM 5-B.01	VH_8H2.B10-CEACAM 5-B.01 (SH62T)	QVQLVESGGDVVQPGRSLRL SCAASGFTLSSYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDTVKGRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVS RHFDWHY YYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:333) CDR1: GFTLSSY (SEQ ID NO:91) (Chothia) o SYGMH (SEQ ID NO:92) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDTVKG (SEQ ID NO:79) (Kabat) CDR3: ERVS RHFDWHY YYGMDV (SEQ ID NO:72)	
8H2.B10-CEACAM 5-B.01	VH_8H2.B10-CEACAM 5-B.01 (NH73Q)	QVQLVESGGDVVQPGRSLRL SCAASGFTLSSYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISRDN SKNTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVS RHFDWHY YYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:334) CDR1: GFTLSSY (SEQ ID	

		NO:91) (Chothia) o SYGMH (SEQ ID NO:92) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	
8H2.B10- CEACAM 5-B.01	VH_8H2.B 10- CEACAM 5-B.01 (NH76Q)	QVQLVESGGDVVQPGRSLRL SCAASGFTLSSYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISRDNKQTL YLQMNSLRAEDTAVYYCARE RVSRRHFDWHYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:335) CDR1: GFTLSSY (SEQ ID NO:91) (Chothia) o SYGMH (SEQ ID NO:92) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3: ERVSRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	
8H2.B10- CEACAM 5-B.01	VH_8H2.B 10- CEACAM 5-B.01 (NH82aQ)	QVQLVESGGDVVQPGRSLRL SCAASGFTLSSYGMHWVRQA PGKGLEWVAAMWYDGSNN YYEDSVKGRFTISRDNKNTL YLQMQLSLRAEDTAVYYCARE RVSRRHFDWHYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:336) CDR1: GFTLSSY (SEQ ID NO:91) (Chothia) o SYGMH (SEQ ID NO:92) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o AMWYDGSNNYYEDSVKG (SEQ ID NO:71) (Kabat) CDR3:	

		ERVSRRHFDWHYYYGMDV (SEQ ID NO:72)	
16F6.A2- CEACAM 5-B.02 de murino	16F6.A2- CEACAM 5-B.02 (VH Variante 1) de murino	EVQLQQSAAELARPGASVKM SCKASGYTFTAYTIHWVKQR PGQGLEWIGYINPSSGYTEYN QKFKDKTTLTADQSSPTAYIQ LSTLTSEDSAVYYCTREGGLL WFDYWGQGTTTLTVST (SEQ ID NO:100) CDR1: GYTFTAY (SEQ ID NO:101) (Chothia) o AYTIH (SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID NO: 105)	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTM SCKSSHSLLYGNFQNNYLAW YQQKPGQSPKLLIYWASTRES GVPDRFTGSGSGTDFTLTISV KAEDLAVYYCQQYYSYPYTF GGGTKLEIK (SEQ ID NO:106) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) CDR3: QQYYSYPYT (SEQ ID NO:109)
16F6.A2- CEACAM 5-B.02 de murino	16F6.A2- CEACAM 5-B.02 (VH Variante 2) de murino	QVQLQQSAAELARPGASVKM SCKASGYTFTAYTIHWVKQR PGQGLEWIGYINPSSGYTEYN QKFKDKTTLTADQSSPTAYIQ LSTLTSEDSAVYYCTREGGLL WFDYWGQGTTTLTVST (SEQ ID NO:110) CDR1: GYTFTAY (SEQ ID NO:101) (Chothia) o AYTIH (SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID NO: 105)	DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTM SCKSSHSLLYGNFQNNYLAW YQQKPGQSPKLLIYWASTRES GVPDRFTGSGSGTDFTLTISV KAEDLAVYYCQQYYSYPYTF GGGTKLEIK (SEQ ID NO:106) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) CDR3: QQYYSYPYT (SEQ ID NO:109)
16F6.A2- CEACAM 5-B.02-BM humanizad a	16F6.A2- CEACAM 5-B.02- BM-H1- VH humanizad a y	QVQLVQSGAEVKKPGASVK MSCKASGYTFTAYTIHWVRQ APGQGLEWIGYINPSSGYTEY NQKFKDRITLTADTSIPTAYM ELSRLSDDTAVYYCTREGG LLWFDYWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:112)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATI NCKSSHSLLYGNFQNNYLAW YQQKPGQPPKLLIYWASTRES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISL QAEDVAVYYCQQYYSYPYTF GGGTKLEIK (SEQ ID NO:119) CDR1:

	16F6.A2-CEACAM 5-B.02-BM-L1-VL humanizada	CDR1: GYTFTAY (SEQ ID NO:101) (Chothia) o AYTIH (SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID NO:105)	KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) CDR3: QQYYSSYPYT (SEQ ID NO:109)
16F6.A2-CEACAM 5-B.02-BM humanizada	16F6.A2-CEACAM 5-B.02-BM-H2-VH humanizada y 16F6.A2-CEACAM 5-B.02-BM-L1-VL humanizada	QVQLVQSGAEVKKPGASVK MSCKASGYTFTAYTIHWVRQ APGQGLEWIGYINPSSGYTEY NQKFKDRTTLTADTSIPTAYI ELSRLRSDDTAVYYCTREGG LLWFDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:113) CDR1: GYTFTAY (SEQ ID NO:101) (Chothia) o AYTIH (SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID NO:105)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATI NCKSSHSLLYGNFQNNYLA WYQQKPGQPPKLLIYWASTRES GVPDRFSGSGSGTDFTLTSSL QAEDVAVYYCQQYYSSYPYTF GGGTKLEIK (SEQ ID NO:119) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) CDR3: QQYYSSYPYT (SEQ ID NO:109)
16F6.A2-CEACAM 5-B.02-BM humanizada	16F6.A2-CEACAM 5-B.02-BM-H1-VH (humanizada a)_ Variante 1(QE) y 16F6.A2-CEACAM 5-B.02-BM-L1-VL humanizada	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTAYTIHWVRQA PGQGLEWMGYINPSSGYTEY NQKFKDRTTLTADTSIPTAYM ELSRLRSDDTAVYYCTREGG LLWFDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:114) CDR1: GYTFTAY (SEQ ID NO:101) (Chothia) o AYTIH (SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID NO:105)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATI NCKSSHSLLYGNFQNNYLA WYQQKPGQPPKLLIYWASTRES GVPDRFSGSGSGTDFTLTSSL QAEDVAVYYCQQYYSSYPYTF GGGTKLEIK (SEQ ID NO:119) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) CDR3: QQYYSSYPYT (SEQ ID NO:109)

		NO:105)	
16F6.A2-CEACAM 5-B.02-BM humanizada	16F6.A2-CEACAM 5-B.02-BM-H1-VH (humanizada) a)_ Variante 2 (QE, DQ) y 16F6.A2-CEACAM 5-B.02-BM-L1-VL humanizada	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTAYTIHWVRQA PGQGLEWMGYINPSSGYTEY NQKFKDRTTLTADTSIPTAYM ELSRLRSQDTAVYYCTREGG LLWFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:115) CDR1: GYTFTAY (SEQ ID NO:101) (Chothia) o AYTIH (SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID NO:105)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATI NCKSSHSLLYGNFQNNYLAW YQQKPGQPPKLLIYWASTRES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISL QAEDVAVYYCQQYYSPYTF GGGTKLEIK (SEQ ID NO:119) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) CDR3: QQYYSPYTF (SEQ ID NO:109)
16F6.A2-CEACAM 5-B.02-BM humanizada	16F6.A2-CEACAM 5-B.02-BM-H2-VH (humanizada) a)_ Variante 1 (QE) y 16F6.A2-CEACAM 5-B.02-BM-L1-VL humanizada	EVQLVQSGAEVKKPGASVK MSCASGYTFTAYTIHWVRQ APGQGLEWIGYINPSSGYTEY NQKFKDRTTLTADTSIPTAYI ELSRLRSDDTAVYYCTREGG LLWFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:116) CDR1: GYTFTAY (SEQ ID NO:101) (Chothia) o AYTIH (SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID NO:105)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATI NCKSSHSLLYGNFQNNYLAW YQQKPGQPPKLLIYWASTRES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISL QAEDVAVYYCQQYYSPYTF GGGTKLEIK (SEQ ID NO:119) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) CDR3: QQYYSPYTF (SEQ ID NO:109)
16F6.A2-CEACAM 5-B.02-BM humanizada	16F6.A2-CEACAM 5-B.02-BM-H2-VH (humanizada) a)_ Variante 2 (QH1E, DH85Q) y	EVQLVQSGAEVKKPGASVK MSCASGYTFTAYTIHWVRQ APGQGLEWIGYINPSSGYTEY NQKFKDRTTLTADTSIPTAYI ELSRLRSQDTAVYYCTREGG LLWFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:117) CDR1: GYTFTAY (SEQ ID	DIVMTQSPDSLAVSLGERATI NCKSSHSLLYGNFQNNYLAW YQQKPGQPPKLLIYWASTRES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISL QAEDVAVYYCQQYYSPYTF GGGTKLEIK (SEQ ID NO:119) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ

	16F6.A2-CEACAM 5-B.02-BM-L1-VL humanizada	NO:101) (Chothia) o AYTIIH (SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID NO:105)	ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) CDR3: QQYYSYPYT (SEQ ID NO:109)
Nivel 2			
PH_415-CEACAM 5	PH_415-CEACAM 5	QVQLQESGPGLVKPSGTLST CAVSGGSISSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIIYHSGSTNYNP SLKSRVTISVDKSKNQFSLNL NSVTAADTAVYYCARGYSGS YFDLDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:120) CDR1: GGSISSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIIYHSGSTNYNP SLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	EIVMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQGISNYLAWYQQKPGK VPKLLIYAASLTQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCQQLNSYPLTFGGGKTKVEIK (SEQ ID NO:126) CDR1: RASQGISNYLA (SEQ ID NO:127) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNSYPLT (SEQ ID NO:129)
PH_416-CEACAM 5	PH_416-CEACAM 5	QVQLQESGPGLVKPSGTLST CAVSGGSISSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIIYHSGSTNYNP SLKSRVTISVDKSKNQFSLNL NSVTAADTAVYYCARGYSGS YFDLDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:120) CDR1: GGSISSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIIYHSGSTNYNP SLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ	EIVMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQGISNYLAWYQQKPGK VPKLLIYAASLTQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCQQLNSYPLTFGGGKTKVEIK (SEQ ID NO:126) CDR1: RASQGISNYLA (SEQ ID NO:127) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNSYPLT (SEQ ID NO:129)

		ID NO:125)	
PH_418- CEACAM 5	PH_418- CEACAM 5	QVQLQESGPGLVKPSGTLST CAVSGGSISSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIIYHSGSTNYP SLKSRVTISVDKSKNQFSLNL NSVTAADTAVYYCARGYSGS YFDLDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:120) CDR1: GGSISSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIIYHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	DIRLTQSPSFLSASVGDRVTIT CRASQGISSYLAWYQQKPGK APKLLIYAASLTQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCQQLNSYPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:130) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNSYPFT (SEQ ID NO:132)
PH_418- CEACAM 5	PH_418- CEACAM 5_VL Variante		DIRLTQSPSFLSASVGDRVTIT CRASQGISSYLAWYQQKPGK APKLLIYAASLTQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCQQLNAYPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:133) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNAYPFT (SEQ ID NO:134)
PH_419- CEACAM 5	PH_419- CEACAM 5	QVQLVQSGPGLVKPSGTLST CAVSGGSISSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIIYHSGSTNYP SLKSRVTISVDKSKNQFSLKL NSVTAADTAVYYCARGSSGS YFDLDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:135) CDR1: GGSISSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID	DIVMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQGISSYLAWYQQKPGK APKLLIYAASLTQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCQQLNSYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:136) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128)

		NO:123) (Chothia) o EIYHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GSSGSYFDLDI (SEQ ID NO:337)	CDR3: QQLNSYPLT (SEQ ID NO:129)
PH_415- CEACAM 5	VH PH_415- CEACAM 5 (QH1E)	EVQLQESGPGLVKPSGTLST CAVSGGSISSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIYHSGSTNYPN SLKSRVTISVDKSKNQFSLNL NSVTAADTAVYYCARGYSGS YFDLDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:338) CDR1: GGSISSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIYHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	
PH_415- CEACAM 5	VH PH_415- CEACAM 5 (SH82bA)	QVQLQESGPGLVKPSGTLST CAVSGGSISSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIYHSGSTNYPN SLKSRVTISVDKSKNQFSLNL NAVTAADTAVYYCARGYSG SYFDLDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:339) CDR1: GGSISSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIYHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO: 124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	
PH_415- CEACAM 5	VL_PH_41 5_CEACA M5		EIVMTQSPSSLSASVGDRVITIT CRASQGISNYLAWYQQKPGK VPKLLIYAASLTQSGVPSRFSG

	(SL93A)		SGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCQQLNAYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO:340) CDR1: RASQGISNYLA (SEQ ID NO:127) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNAYPLT (SEQ ID NO:341)
PH_416- CEACAM 5	VH PH_416- CEACAM 5 (SH82bA)	QVQLQESGPGLVKPSGTLST CAVSGGSISSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIYHSGSTNYP SLKSRVTISVDKSKNQFSLNL NAVTAADTAVYYCARGYSG SYFDLDIWGGQTTTVTVSS (SEQ ID NO:339) CDR1: GGSISSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	
PH_416- CEACAM 5	VL PH_416- CEACAM 5(SL93A)		EIVMTQSPSSLSASVGDRVIT CRASQGISNYLAWYQQKPGK VPKLLIYAASLTQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCQQLNAYPLTFGGGKVEIK (SEQ ID NO:340) CDR1: RASQGISNYLA (SEQ ID NO:127) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNAYPLT (SEQ ID NO:341)

PH_418- CEACAM 5	VH_PH_41 8- CEACAM 5 (SH82bA)	QVQLQESGPGGLVKPSGTLST CAVSGGSISSSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIIYHSGSTNYP SLKSRVTISVDKSKNQFSLNL NAVTAADTAVYYCARGYSG SYFDLDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:339) CDR1: GGSISSSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIIYHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	
PH_418- CEACAM 5	VL PH_418- CEACAM 5(SL93A)		DIRLTQSPSFLSASVGDRVTIT CRASQGISSYLAWYQQKPGK APKLLIYAASLTQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCQQLNAYPFTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:133) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNAYPFT (SEQ ID NO:134)
PH_419- CEACAM 5	VH_PH_41 9- CEACAM 5 (QH1E)	EVQLVQSGPGGLVKPSGTLST CAVSGGSISSSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIIYHSGSTNYP SLKSRVTISVDKSKNQFSLKL NSVTAADTAVYYCARGSSGS YFDLDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:342) CDR1: GGSISSSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIIYHSGSTNYPNPSLKS (SEQ	

		ID NO:124) (Kabat) CDR3: GSSGSYFDLDI (SEQ ID NO:337)	
PH_419-CEACAM 5	VH_PH_419-CEACAM 5 (SH82bA)	QVQLVQSGPGLVKPSGTLSTL CAVSGGSISSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIIYHSGSTNYP SLKSRVTISVDKSKNQFSLKL NAVTAADTAVYYCARGSSGS YFDLDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:343) CDR1: GGSISSSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIIYHSGSTNYP SLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GSSGSYFDLDI (SEQ ID NO:337)	
PH_419-CEACAM 5	VL PH_419-CEACAM 5 (SL93A)		DIVMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQGISSYLAWYQQKPGK APKLLIYAASLTQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCQQLNAYPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:344) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNAYPLT (SEQ ID NO:341)
PH_417-CEACAM 5	PH_417-CEACAM 5	QVQLQESGPGLVKPSGTLSTL CAVSGGSISSSKWWSWVRQS PGKGLEWIGEIIHSGSINHNTS FKSRTISVDKSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARGGSGSY DAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:144) CDR1: GGSISSSK (SEQ ID NO:145) (Chothia) o SSKWWS	DIQVTQSPATLSVSPGERVTLS CRASRSVRSNLAWYQQKPGQ APRLLIYGASSRATGIPDRFSG SGSGTDFTLTISLQPDFAVY YCQQYNNWPITFGQGTRLEIK (SEQ ID NO:150) CDR1: RASRSVRSNLA (SEQ ID NO:151)

		(SEQ ID NO:146) (Kabat) CDR2: FHSGS (SEQ ID NO:147) (Chothia) o EIFHSGSINHNTSFKS (SEQ ID NO:148) (Kabat) CDR3: GGSGSYDAFDI (SEQ ID NO:149)	CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) CDR3: QQYNNWPIT (SEQ ID NO:152)
PH_417-CEACAM 5	VH_PH_417-CEACAM 5 (QH1E)	EVQLQESGPGGLVKPSGTLST CAVSGGSISSSKWWSWVRQS PGKGLEWIGEIFHSGSINHNTS FKSRVTISVDKSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARGGSGSY DAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:345) CDR1: GGSISSSK (SEQ ID NO:145) (Chothia) o SSKWWS (SEQ ID NO:146) (Kabat) CDR2: FHSGS (SEQ ID NO:147) (Chothia) o EIFHSGSINHNTSFKS (SEQ ID NO:148) (Kabat) CDR3: GGSGSYDAFDI (SEQ ID NO:149)	
PH_417-CEACAM 5	VH_PH_417-CEACAM 5 (NH60Q)	QVQLQESGPGGLVKPSGTLST CAVSGGSISSSKWWSWVRQS PGKGLEWIGEIFHSGSINHQTS FKSRVTISVDKSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCARGGSGSY DAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:346) CDR1: GGSISSSK (SEQ ID NO:145) (Chothia) o SSKWWS (SEQ ID NO:146) (Kabat) CDR2: FHSGS (SEQ ID NO:147) (Chothia) o EIFHSGSINHQTSFKS (SEQ ID NO:347) (Kabat) CDR3: GGSGSYDAFDI (SEQ ID NO:149)	

PH_417- CEACAM 5	VH_PH_41 7- CEACAM 5 (SH62A)	QVQLQESGPGGLVKPSGTLST CAVSGGSISSSKWWSWVRQS PGKGLEWIGEIFHSGSINHNT AFKSRVTISVDKSKNQFSLKL SSVTAADTAVYYCARGGSGS YDAFDIWGQGTMTVSS (SEQ ID NO:348) CDR1: GGSISSSK (SEQ ID NO:145) (Chothia) o SSKWWS (SEQ ID NO:146) (Kabat) CDR2: FHSGS (SEQ ID NO:147) (Chothia) o EIFHSGSINHNTAFKS (SEQ ID NO:349) (Kabat) CDR3: GGSGSYDAFDI (SEQ ID NO:149)	
PH_421- CEACAM 5	PH_421- CEACAM 5	QVQLQESGPGGLVKPSGTLST CAVSGGSISSSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIYHSGSTNYNP SLKSRVTISVDKSKNQFSLNL NSVTAADTAVYYCARGYSGS YFDLDIWGQGTTVTVSSGS (SEQ ID NO:155) CDR1: GGSISSSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIIYHSGSTNYNP SLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	EIVLTQSPSFLSASVGDRVTIT CRASQGISSYLAWYQQKPGK APKLLIYAASLTQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCQQLNSYPFTFGPGTKLEIK (SEQ ID NO:156) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNSYPFT (SEQ ID NO:132)
PH_421- CEACAM 5	PH_421- CEACAM 5_VL Variante		EIVLTQSPSFLSASVGDRVTIT CRASQGISSYLAWYQQKPGK APKLLIYAASLTQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCQQLNAYPFTFGPGTKLEIK (SEQ ID NO:157) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131)

			CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QQLNAYPFT (SEQ ID NO:134)
PH_421-CEACAM 5	VH_PH_421-CEACAM 5 (QH1E)	EVQLQESGPGGLVKPSGTLST CAVSGGSISSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIIYHSGSTNYP SLKSRVTISVDKSKNQFSLNL NSVTAADTAVYYCARGYSGS YFDLDIWGQGTTVTVSSGS (SEQ ID NO:350) CDR1: GGSISSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIIYHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	
PH_421-CEACAM 5	VH_PH_421-CEACAM 5 (SH82bA)	QVQLQESGPGGLVKPSGTLST CAVSGGSISSDWWTWVRQP PGKGLEWIGEIIYHSGSTNYP SLKSRVTISVDKSKNQFSLNL NAVTAADTAVYYCARGYSG SYFDLDIWGQGTTVTVSSGS (SEQ ID NO:351) CDR1: GGSISSD (SEQ ID NO:121) (Chothia) o SSDWWT (SEQ ID NO:122) (Kabat) CDR2: YHSGS (SEQ ID NO:123) (Chothia) o EIIYHSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:124) (Kabat) CDR3: GYSGSYFDLDI (SEQ ID NO:125)	
1078_G03-CEACAM 5	1078_G03-CEACAM 5	QVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSYAMSWVRQA PGKGLEWVSEISGSGDRTSYA DSVKGRFTISRDNKSKNRLYLQ MNRLRTEDTAVYYCAKDLGP	DIRMTQSPSTLSASVGDRVIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFS SGSGTEFTLTISLQPDDEFATY YCQQYNSTWTFGQGQTKVD

		SGWYGLFDYWGQGLVTVS S (SEQ ID NO:160) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGDR (SEQ ID NO:161) (Chothia) o EISGSGDRTSYADSVKG (SEQ ID NO:162) (Kabat) CDR3: DLGPSGWYGLFDY (SEQ ID NO:163)	IK (SEQ ID NO:164) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSTWT (SEQ ID NO:166)
1078_G03- CEACAM 5	1078_G03- CEACAM 5_VL Variante		DIRMTQSPSTLSASVGDRVITIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDFFATY YCQQYNA YSTWTFGQGTKVDIK (SEQ ID NO:167) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNAYSTWT (SEQ ID NO:168)
1078_G03- CEACAM 5	VH)1078_ G03- CEACAM 5 (QH1E)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSEISGSGDRTSYA DSVKGRFTISRDNLSKNRLYLQ MNRLRTEDTAVYYCAKDLGP SGWYGLFDYWGQGLVTVS S (SEQ ID NO:352) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGDR (SEQ ID NO:161) (Chothia) o EISGSGDRTSYADSVKG (SEQ ID NO:162) (Kabat) CDR3: DLGPSGWYGLFDY	

		(SEQ ID NO:163)	
1078_G03-CEACAM 5	VH 1078_G03-CEACAM 5 (SH62A)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSEISGSGDRTSYA DAVKGRFTISRDN SKNRLYL QMNRLRTEDTAVYYCAKDL GPSGWYGLFDYWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:353) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGDR (SEQ ID NO:161) (Chothia) o EISGSGDRTSYADAVKG (SEQ ID NO: 720) (Kabat) CDR3: DLGPSGWYGLFDY (SEQ ID NO:163)	
1078_G03-CEACAM 5	VH 1078_G03-CEACAM 5 (NH73A)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSEISGSGDRTSYA DSVKGRFTISRDA SKNRLYLQ MNRLRTEDTAVYYCAKDLGP SGWYGLFDYWGQGT LVTVS S (SEQ ID NO:354) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGDR (SEQ ID NO:161) (Chothia) o EISGSGDRTSYADAVKG (SEQ ID NO: 720) (Kabat) CDR3: DLGPSGWYGLFDY (SEQ ID NO:163)	
1078_G03-CEACAM 5	VH 1078_G03-CEACAM 5 (SH74A)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSEISGSGDRTSYA DSVKGRFTISRDA KNRLYL QMNRLRTEDTAVYYCAKDL GPSGWYGLFDYWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:355) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID	

		NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGDR (SEQ ID NO:161) (Chothia) o EISGSGDRTSYADAVKG (SEQ ID NO: 720) (Kabat) CDR3: DLGPSGWYGLFDY (SEQ ID NO:163)	
Murina 1A1.A3-CEACAM 5-B.02	Murina 1A1.A3-CEACAM 5-B.02	EVQLQESGAELVRSGASVKL SCTASDFNIKDSYMHVWTQR PEQGLEWIGWIDPENGDEY APKFQGKATMTADTSSNTAY LHLSSLTSEDVAVYYCNVITT VVNYAMDYWGQGTSTVTVSS (SEQ ID NO:173) CDR1: DFNIKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPENGDEY (SEQ ID NO:176) (Chothia) o WIDPENGDEYAPKFQG (SEQ ID NO:177) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	QIVLSQSPAIMSASPGEKVTIT CSTSSSVSYMHWFQQKPGTSP KLWIYSTSNLASGVPARFSGS GSGTSYSLTISRMEAEDAATY YCQQRSNYPLTFGAGTKLELK (SEQ ID NO:179) CDR1: STSSSVSYMH (SEQ ID NO:180) CDR2: STSNLAS (SEQ ID NO:181) CDR3: QQRSNYPLT (SEQ ID NO:182)
Murina 1A1.A3-CEACAM 5-B.02	1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM-H1_NG humanizada	EVQLVQSGAEVVKPGATVKL SCKASDFNIKDSYMHVWVQQA PGKGLEWIGWIDPENGDEY APKFQGRATITADTSTDATL ELSSLRSEDVAVYYCNVITTV VNYAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:183) CDR1: DFNIKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPENGDEY (SEQ ID NO:176) (Chothia) o WIDPENGDEYAPKFQG (SEQ ID NO:177) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	EIVLTQSPATLSASPGERATLS CSTSSSVSYMHWFQQKPGQA PRLWIYSTSNLASGVPARFSGS GSGTDYTLTISLSEPEDFAVYY CQQRSNYPLTFGAGTKVEIK (SEQ ID NO:184) CDR1: STSSSVSYMH (SEQ ID NO:180) CDR2: STSNLAS (SEQ ID NO:181) CDR3: QQRSNYPLT (SEQ ID NO:182)

1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM humanizad a	1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM-H1_SG humanizad a	EVQLVQSGAEVVKPGATVKL SCKASDFNIKDSYMHWWQQA PGKGLEWIGWIDPESGDTEY APKFQGRATITADTSTD TAYL ELSSLRSED TAVYYCNVITTV VNYAMDYWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:185) CDR1: DFNKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPESGD (SEQ ID NO:186) (Chothia) o WIDPESGDTEYAPKFQG (SEQ ID NO:187) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	EIVLTQSPATLSASPGERATLS CSTSSSVSYMHWFQQKPGQA PRLWIYSTSNLASGV PARFSGS GSGTDYTLTIS SLEPEDFAVYY CQQRSNYPLTFGAGTKVEIK (SEQ ID NO:184) CDR1: STSSSVSYMH (SEQ ID NO:180) CDR2: STSNLAS (SEQ ID NO:181) CDR3: QQRSNYPLT (SEQ ID NO:182)
1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM humanizad a	1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM-H2_NG humanizad a	EVQLQQSGAEVVKPGATVKL SCKASDFNIKDSYMHWVTQA PGKGLEWIGWIDPENG DTEY APKFQGRATMTADTSTD TAY LELSSLRSED TAVYYCNVITTV VVNYAMDYWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:188) CDR1: DFNKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPENG D (SEQ ID NO:176) (Chothia) o WIDPENG DTEYAPKFQG (SEQ ID NO:177) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	EIVLTQSPATLSASPGERATLS CSTSSSVSYMHWFQQKPGQA PRLWIYSTSNLASGV PARFSGS GSGTDYTLTIS SLEPEDFAVYY CQQRSNYPLTFGAGTKVEIK (SEQ ID NO:184) CDR1: STSSSVSYMH (SEQ ID NO:180) CDR2: STSNLAS (SEQ ID NO:181) CDR3: QQRSNYPLT (SEQ ID NO:182)
1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM humanizad a	1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM-H2_SG humanizad a	EVQLQQSGAEVVKPGATVKL SCKASDFNIKDSYMHWVTQA PGKGLEWIGWIDPESGDTEY APKFQGRATMTADTSTD TAY LELSSLRSED TAVYYCNVITTV VVNYAMDYWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:189) CDR1: DFNKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH	EIVLTQSPATLSASPGERATLS CSTSSSVSYMHWFQQKPGQA PRLWIYSTSNLASGV PARFSGS GSGTDYTLTIS SLEPEDFAVYY CQQRSNYPLTFGAGTKVEIK (SEQ ID NO:184) CDR1: STSSSVSYMH (SEQ ID NO:180) CDR2: STSNLAS (SEQ ID

		(SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPESGD (SEQ ID NO:186) (Chothia) o WIDPESGDTEYAPKFQG (SEQ ID NO:187) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	NO:181) CDR3: QQRSNYPLT (SEQ ID NO:182)
1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM humanizad a	1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM-H2_QG humanizad a	EVQLQQSGAEVVKPGATVKL SCKASDFNIKDSYMHWVTQA PGKGLEWIGWIDPEQGDTEY APKFQGRATMTADTSTDYAY LELSSLRSEDYAVYYCNVITT VVNYAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:190) CDR1: DFNIKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPEQGD (SEQ ID NO:191) (Chothia) o WIDPEQGDTEYAPKFQG (SEQ ID NO:192) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	EIVLTQSPATLSASPGERATLS CSTSSSVSYMHWFQQKPGQA PRLWIYSTSNLASGVPARFSGS GSGTDYTLTISSELPEDFAVYY CQQRSNYPLTFGAGTKVEIK (SEQ ID NO:184) CDR1: STSSSVSYMH (SEQ ID NO:180) CDR2: STSNLAS (SEQ ID NO:181) CDR3: QQRSNYPLT (SEQ ID NO:182)
1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM humanizad a	VH 1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM-H1_(SH32 A) humanizad a	EVQLVQSGAEVVKPGATVKL SCKASDFNIKDAYMHVWVQQ APGKGLEWIGWIDPENGDT EYAPKFQGRATITADTSTDYAY LELSSLRSEDYAVYYCNVITT VVNYAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:356) CDR1: DFNIKDA (SEQ ID NO:200) (Chothia) o DAYMH (SEQ ID NO:201) (Kabat) CDR2: DPENGDT (SEQ ID NO:176) (Chothia) o WIDPENGDT EYAPKFQG (SEQ ID NO:177) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	

1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM humanizada	VH 1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM-H1_(NH54 Q) humanizada	EVQLVQSGAEVVKPGATVKL SCKASDFNIKDSYMHVWVQQA PGKGLEWIGWIDPEQGDTEY APKFQGRATITADTSTD TAYL ELSSLRSED TAVYYCNVITTV VNYAMDYWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:198) CDR1: DFNKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPEQGD (SEQ ID NO:191) (Chothia) o WIDPEQGDTEYAPKFQG (SEQ ID NO:192) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	
1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM humanizada	VH 1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM-H1_(NH54 S) humanizada	EVQLVQSGAEVVKPGATVKL SCKASDFNIKDSYMHVWVQQA PGKGLEWIGWIDPESGDTEY APKFQGRATITADTSTD TAYL ELSSLRSED TAVYYCNVITTV VNYAMDYWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:185) CDR1: DFNKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPESGD (SEQ ID NO:186) (Chothia) o WIDPESGDTEYAPKFQG (SEQ ID NO:187) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	
1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM humanizada	1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM-H2_(NH54 Q) humanizada	EVQLQQSGAEVVKPGATVKL SCKASDFNIKDSYMHVVTQA PGKGLEWIGWIDPEQGDTEY APKFQGRATMTADTSTD TAY LELSSLRSED TAVYYCNVITT VVNYAMDYWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:190)	

	a	CDR1: DFNIKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPEQGD (SEQ ID NO:191) (Chothia) o WIDPEQGDTEYAPKFQG (SEQ ID NO:192) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	
1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM humanizad a	1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM-H2_(NH54 S) humanizad a	EVQLQQSGAEVVKPGATVKL SCKASDFNIKDSYMHWVTQA PGKGLEWIGWIDPESGDTEY APKFQGRATMTADTSTDYAY LELSSLRSEDYAVYYCNVITT VVNYAMDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:189) CDR1: DFNIKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPESGD (SEQ ID NO:186) (Chothia) o WIDPESGDTEYAPKFQG (SEQ ID NO:187) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	
1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM humanizad a	1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM-H1_QG-VH humanizad a	EVQLVQSGAEVVKPGATVKL SCKASDFNIKDSYMHWVQQA PGKGLEWIGWIDPEQGDTEY APKFQGRATITADTSTDYAYL ELSSLRSEDYAVYYCNVITTV VNYAMDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:198) CDR1: DFNIKDS (SEQ ID NO:174) (Chothia) o DSYMH (SEQ ID NO:175) (Kabat) CDR2: DPEQGD (SEQ ID NO:191) (Chothia) o WIDPEQGDTEYAPKFQG	EIVLTQSPATLSASPGERATLS CSTSSSVSYMHWFQQKPGQA PRLWIYSTSNLASGVPARFSGS GSGTDYTLTISSLEPEDFAVYY CQQRSNYPLTFGAGTKVEIK (SEQ ID NO:184) CDR1: STSSSVSYMH (SEQ ID NO:180) CDR2: STSNLAS (SEQ ID NO:181) CDR3: QQRSNYPLT (SEQ ID NO:182)

		(SEQ ID NO:192) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	
1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM humanizada	1A1.A3-CEACAM 5-B.02-BM-H1_QG-VH humanizada (Variante 2)	EVQLVQSGAEVVKPGATVKLSCKASDFNIKDAYMHVWVQQAPGKGLEWIGWIDPEQGDTEYAPKFQGRATITADTSTDYAYLLESSLRSEDYAVYYCNVITTVVNYAMDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:199) CDR1: DFNIKDA (SEQ ID NO:200) (Chothia) o DAYMH (SEQ ID NO:201) (Kabat) CDR2: DPEQGD (SEQ ID NO:191) (Chothia) o WIDPEQGDTEYAPKFQG (SEQ ID NO:192) (Kabat) CDR3: ITTVVNYAMDY (SEQ ID NO:178)	EIVLTQSPATLSASPGERATLS CSTSSSVSYMHWFQQKPGQAPRLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTDYTLTISILEPEDFAVYYCQQRSNYPLTFGAGTKVEIK (SEQ ID NO:184) CDR1: STSSSVSYMH (SEQ ID NO:180) CDR2: STSNLAS (SEQ ID NO:181) CDR3: QQRSNYPLT (SEQ ID NO:182)
4B10.B3-CEACAM 5-A.02	4B10.B3-CEACAM 5-A.02_VH1	EVQLQESGAELMKPGASVKISCKATGYTFSTYWIEWVKPRPGHGLEWIGEILPGTGTTNYNEKFKGKATFTADTSSNTAYMLSSLTSEDSAVYYCATLNGHGDYWFYFDVWGAGTTVTVSS (SEQ ID NO:639) CDR1: GYTFSTY (SEQ ID NO:640) (Chothia) o TYWIE (SEQ ID NO:641) (Kabat) CDR2: LPGTGT (SEQ ID NO:642) (Chothia) o EILPGTGTTNYNEKFKG (SEQ ID NO:643) (Kabat) CDR3: LNHGHDYWFYFDV (SEQ ID NO:644)	
4B10.B3-CEACAM 5-A.02	4B10.B3-CEACAM 5-A.02_VH2	QVQLQQSGAELMKPGASVKISCKATGYTFSTYWIEWVKPRPGHGLEWIGEILPGTGTTNYNKFKGKATFTADTSSNTAYMLSSLTSEDSAVYYCATLNG	

		HGDYWYFDVWGAGTTVTVS S (SEQ ID NO:645) CDR1: GYTFSTY (SEQ ID NO:640) (Chothia) o TYWIE (SEQ ID NO:641) (Kabat) CDR2: LPGTGT (SEQ ID NO:642) (Chothia) o EILPGTGTTNYNEKFKG (SEQ ID NO:643) (Kabat) CDR3: LNGHGDYWYFDV (SEQ ID NO:644)	
4B10.B3- CEACAM 5-A.02	4B10.B3- CEACAM 5-A.02_VL		QAVVTQESALTTSPGETVTLT CRSSTGGVTTSNYANWVQEK PDHLFTGLIGGTNNRAPGVPA RFGSLIGDKAALTITGAQTED EAIYFCALWYSNHLVFGGGT KLTVL (SEQ ID NO:646) CDR1: RSSTGGVTTSNYAN (SEQ ID NO:647) CDR2: GTNNRAP (SEQ ID NO:648) CDR3: ALWYSNHLV (SEQ ID NO:649)
13C7.A6- CEACAM 5-B.02	13C7.A6- CEACAM 5- B.02_VH1	EVQLQESGPELVKPGASLKIS CKASGYSFTDYTMNWVKQS HGKNLEWIGLINPYNGGTTY NQKFKDMATLTVDKSSSTAY MELLSLTSEDSAVYYCARSE YGHSYWYFDVWGAGTTVTV SP (SEQ ID NO:650) CDR1: GYSFTDY (SEQ ID NO:651) (Chothia) o DYTEMN (SEQ ID NO:652) (Kabat) CDR2: NPYNGG (SEQ ID NO:653) (Chothia) o LINPYNGGTTYNQKFKD (SEQ ID NO:654) (Kabat) CDR3: SEYGHSYWYFDV (SEQ ID NO:655)	

13C7.A6-CEACAM 5-B.02	13C7.A6-CEACAM 5-B.02_VH2	EVQLQQSGPELVKPGASLKIS CKASGYSFTDYTMNWVKQS HGKNLEWIGLINPYNGGTTY NQKFKDMATLTVDKSSSTAY MELLSLTSEDSAVYYCARSE YGHSYWYFDVWGAGTTVTV SS (SEQ ID NO:656) CDR1: GYSFTDY (SEQ ID NO:651) (Chothia) o DYTMN (SEQ ID NO:652) (Kabat) CDR2: NPYNGG (SEQ ID NO:653) (Chothia) o LINPYNGGTTYNQKFKD (SEQ ID NO:654) (Kabat) CDR3: SEYGHSYWYFDV (SEQ ID NO:655)	
13C7.A6-CEACAM 5-B.02	13C7.A6-CEACAM 5-B.02_VL1		DIVMSQSPSSLAVSVGEKVTM SCKSSHSLLYGNFQNNYLAW YQQKPGQSPKLLIYWASTRES GVPDRFTGSGSGTDFLTISV KAEDLAVYYCQQYYSYPYTF GGGTKLEIK (SEQ ID NO:106) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) CDR3: QQYYSYPYT (SEQ ID NO:109)
13C7.A6-CEACAM 5-B.02	13C7.A6-CEACAM 5-B.02_VL2		QIVLTQSPAISASPGEKVTLT CSPSSSVTYMHWWYQQKSGTSP KRWIYDTSKLASGVPARFSGI GSGTSYSLTINSMEAEDAATY YCQQWNNYPYTFGGGTRLEI K (SEQ ID NO:657) CDR1: SPSSSVTYMH (SEQ ID NO:658) CDR2: DTSKLAS (SEQ ID

			NO:659) CDR3: QQWNNYPYT (SEQ ID NO:660)
13C7.A6-CEACAM 5-B.02	13C7.A6-CEACAM 5-B.02_VL3		DIQMTQSPASLSASVGDTVTIT CRASENIYSYFAWYQQKQGK SPRLLVYNARALAEVPSRFS GSGSGTQFSKINSIQPEDFGSY YCQHLYGAPFTFGSGTKLEIK (SEQ ID NO:661) CDR1: RASENIYSYFA (SEQ ID NO:662) CDR2: NARALAE (SEQ ID NO:663) CDR3: QHLYGAPFT (SEQ ID NO:664)
7E11.B2-CEACAM 5-B.02	7E11.B2-CEACAM 5-B.02_VH1	QIQLVQSGPELKKPGETVKIS CKASGYSFTKYGMNWVKQA PGKGLKWMGWINTYSGEPTY ADDFEGRFAFSLETSANTAYL QINNPKNEDMATYFCARGGG FDYGFYDWGQGTTLTVST (SEQ ID NO:665) CDR1: GYSFTKY (SEQ ID NO:666) (Chothia) o KYGMN (SEQ ID NO:667) (Kabat) CDR2: NTYSGE (SEQ ID NO:668) (Chothia) o WINTYSGEPTYADDFEG (SEQ ID NO:669) (Kabat) CDR3: GGGFDYGFYDW (SEQ ID NO:670)	
7E11.B2-CEACAM 5-B.02	7E11.B2-CEACAM 5-B.02_VH2	QIQLVQSGPELKKPGETVKIS CKASGYSFTKYGMNWVKQA PGKGLKWMGWINTYSGEPTY ADDFEGRFAFSLETSANTAYL QINNPKNEDMATYFCARGGG FDYGFYDWGQGTTLTVSS (SEQ ID NO:699) CDR1: GYSFTKY (SEQ ID	

		NO:666) (Chothia) o KYGMN (SEQ ID NO:667) (Kabat) CDR2: NTYSGE (SEQ ID NO:668) (Chothia) o WINTYSGEPTYADDFEG (SEQ ID NO:669) (Kabat) CDR3: GGGFDYGFYD (SEQ ID NO:670)	
7E11.B2-CEACAM 5-B.02	7E11.B2-CEACAM 5-B.02_VL		QIVLTQSPAISASPGKVTMTCSASSSVSYIHWYRQRSGTSPKRWIYDTSKSLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISTMEAEDAATYYCQQWSNYPYTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:671) CDR1: SASSSVSYIH (SEQ ID NO:672) CDR2: DTSKSLAS (SEQ ID NO:659) CDR3: QQWSNYPYT (SEQ ID NO:673)
10D6.E3-CEACAM 5-B.02	10D6.E3-CEACAM 5-B.02_VH	EVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTDYTMNWVKQSHGKNLEWIGHIYPYNGGTTYNQKFQDKASLTADKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARGEFLRSYWYFDVWGAGTLVAVSS (SEQ ID NO:674) CDR1: GYSFTDY (SEQ ID NO:651) (Chothia) o DYTEMN (SEQ ID NO:652) (Kabat) CDR2: YPYNGG (SEQ ID NO:675) (Chothia) o HIYPYNGGTTYNQKFQD (SEQ ID NO:676) (Kabat) CDR3: GEFLRSYWYFDV (SEQ ID NO:677)	
10D6.E3-CEACAM 5-B.02	10D6.E3-CEACAM 5-		QIVLTQSPAISASPGKVTLT CSPSSSVTYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTSKSLASGVPARFSGI

	B.02_VL1		GSGTSYSLTINSMEAEDAATY YCQQWNNYPYTFGGGKLEI K (SEQ ID NO:678) CDR1: SPSSSVTYMH (SEQ ID NO:658) CDR2: DTSKLAS (SEQ ID NO:659) CDR3: QQWNNYPYT (SEQ ID NO:660)
10D6.E3- CEACAM 5-B.02	10D6.E3- CEACAM 5- B.02_VL2		DIQMTQSPASLSASVGETVTIT CRGSENIYSYLTWYQQKQGK SPQLLVYNAKTLAEGVPSRFS GSGSGTQFSLKINSLOPEDFGR YYCQHLYSSPYTFGGGKLEI K (SEQ ID NO:679) CDR1: RGSENIYSYLT (SEQ ID NO:680) CDR2: NAKTLAE (SEQ ID NO:681) CDR3: QHLYSSPYT (SEQ ID NO:682)
13C7.F2- CEACAM 5-B.02	13C7.F2- CEACAM 5-B.02_VH	EVQLQQSGPELVKPGASLKIS CKASGYSFTDYTMNWVKQS HGKNLEWIGLINPYNGGTTY NQKFKDMATLTVDKSSSTAY MELLSLTSEDSAVYYCARSE YGHSYWFYFDVWGAGTTVTV SS (SEQ ID NO:656) CDR1: GYSFTDY (SEQ ID NO:651) (Chothia) o DYTMN (SEQ ID NO:652) (Kabat) CDR2: NPYNGG (SEQ ID NO:653) (Chothia) o LINPYNGGTTYNQKFKD (SEQ ID NO:654) (Kabat) CDR3: SEYGHSYWFYFDV (SEQ ID NO:655)	
13C7.F2-	13C7.F2-		QIVLTQSPAIMASAPGEKVTLT

CEACAM 5-B.02	CEACAM 5- B.02_VL1		CSPSSSVTYMHWHYQQKSGTSP KRWIYDTSKLGASGVPARFSGI GSGTSYSLTINSMEAEDAATY YCQQWNNYPYTFGGGTRLEI K (SEQ ID NO:657) CDR1: SPSSSVTYMH (SEQ ID NO:658) CDR2: DTSKLGAS (SEQ ID NO:659) CDR3: QQWNNYPYT (SEQ ID NO:660)
13C7.F2- CEACAM 5-B.02	13C7.F2- CEACAM 5- B.02_VL2		DIQMTQSPASLSASVGDVTIT CRASENIYSYFAWYQQKQGK SPRLLVYNARALAEVPSRFS GSGSGTQFSLKINSLQPEDFGS YYCQHLYGAPFTFGSGTKLEI K (SEQ ID NO:683) CDR1: RASENIYSYFA (SEQ ID NO:662) CDR2: NARALAE (SEQ ID NO:663) CDR3: QHLYGAPFT (SEQ ID NO:664)
16B11.G2- CEACAM 5-B.01	16B11.G2- CEACAM 5-B.01_VH y 16B11.G2- CEACAM 5-B.01_VL	QVQLQESGPGLVTPSGTSLT CAVSGDSISSSHWWSWVRQP PGKGLEWIGEIIYHSGITNYRS SLKSRVTLSVDKSKNQFSLKL TSVTAADTAVYYCARGGSGN YEAFDIWGQGTLFTVSS (SEQ ID NO:684) CDR1: GDSISSSH (SEQ ID NO:685) (Chothia) o SSHWWS (SEQ ID NO:686) (Kabat) CDR2: YHSGI (SEQ ID NO:687) (Chothia) o EIIYHSGITNYRSSLKS (SEQ ID NO:688) (Kabat) CDR3: GGSGNYEAFDI (SEQ	EIVMTQSPATLSVSPGERATLS CRASQSVRSNLAWYLQKPGQ APRLLIYGASTRATGIPARFSG SGSGTEFTLTISLQSEDFAVY YCQQYNNWPLTFGGGKVEI K (SEQ ID NO:690) CDR1: RASQSVRSNLA (SEQ ID NO:62) CDR2: GASTRAT (SEQ ID NO:63) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42)

		ID NO:689)	
Nivel 3			
1080_G01-CEACAM 5	1080_G01-CEACAM 5	QVQLVESGGGVVQSGRSLRL SCAASGFMFSNFAMHWVRQ APGKGLEWVGVIWYDGSNK FYADSVKGRFTISRDN SKNTL NLQMSRLRAEDTAVYYCAR DGREVWRYYYHYGMDVWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO:377) CDR1: GFMFSNF (SEQ ID NO:204) (Chothia) o NFAMH (SEQ ID NO:205) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o VIWYDGSNKFYADSVKG (SEQ ID NO:206) (Kabat) CDR3: DGREVWRYYYHYGMDV (SEQ ID NO:207)	EIVLTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSI SNWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPD DFATY YCQQYNSYSYTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:208) CDR1: RASQSI SNWLA (SEQ ID NO:209) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSYT (SEQ ID NO:9)
1080_G01-CEACAM 5	1080_G01-CEACAM 5_VL Variante		EIVLTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSI SNWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPD DFATY YCQQYNAYSYT FGGQGTKVEI K (SEQ ID NO:210) CDR1: RASQSI SNWLA (SEQ ID NO:209) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNAYSYT (SEQ ID NO:27)
1080_G01-CEACAM 5	VH 1080_G01-CEACAM 5_(QH1E)	EVQLVESGGGVVQSGRSLRL SCAASGFMFSNFAMHWVRQ APGKGLEWVGVIWYDGSNK FYADSVKGRFTISRDN SKNTL NLQMSRLRAEDTAVYYCAR DGREVWRYYYHYGMDVWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO:357) CDR1: GFMFSNF (SEQ ID NO:204) (Chothia) o NFAMH	

		(SEQ ID NO: 205) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o VIWYDGSNKFYADSVKG (SEQ ID NO:206) (Kabat) CDR3: DGREVWRYYYHYGMDV (SEQ ID NO:203)	
1080_G01-CEACAM 5	VH 1080_G01-CEACAM 5 _(GH54A)	QVQLVESGGGVVQSGRSLRL SCAASGFMFSNFAMHWVRQ APGKGLEWVGVIWYDASNK FYADSVKGRFTISRDN SKNTL NLQMSRLRAEDTAVYYCAR DGREVWRYYYHYGMDVWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO:358) CDR1: GFMFSNF (SEQ ID NO:204) (Chothia) o NFAMH (SEQ ID NO:205) (Kabat) CDR2: WYDASN (SEQ ID NO:359) (Chothia) o VIWYDASNKFYADSVKG (SEQ ID NO:360) (Kabat) CDR3: DGREVWRYYYHYGMDV (SEQ ID NO:203)	
1080_G01-CEACAM 5	VH 1080_G01-CEACAM 5 _(SH62A)	QVQLVESGGGVVQSGRSLRL SCAASGFMFSNFAMHWVRQ APGKGLEWVGVIWYDGSNK FYADAVKGRFTISRDN SKNTL NLQMSRLRAEDTAVYYCAR DGREVWRYYYHYGMDVWGQ GTTVTVSS (SEQ ID NO:361) CDR1: GFMFSNF (SEQ ID NO:204) (Chothia) o NFAMH (SEQ ID NO:205) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o VIWYDGSNKFYADAVKG (SEQ ID NO:362) (Kabat) CDR3: DGREVWRYYYHYGMDV (SEQ	

		ID NO:207)	
1080_G01-CEACAM 5	VH 1080_G01-CEACAM 5_(NH73A)	QVQLVESGGGVVQSGRSLRL SCAASGFMFSNFAMHWVRQ APGKGLEWVGVIWYDGSNK FYADSVKGRFTISRDKNTL NLQMSRLRAEDTAVYYCAR DGREVWRYYYHYGMDVWGQ GTTQTVSS (SEQ ID NO:363) CDR1: GFMFSNF (SEQ ID NO:204) (Chothia) o NFAMH (SEQ ID NO:205) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o VIWYDGSNKFYADSVKG (SEQ ID NO:206) (Kabat) CDR3: DGREVWRYYYHYGMDV (SEQ ID NO:207)	
1080_G01-CEACAM 5	VH 1080_G01-CEACAM 5_(SH74A)	QVQLVESGGGVVQSGRSLRL SCAASGFMFSNFAMHWVRQ APGKGLEWVGVIWYDGSNK FYADSVKGRFTISRDNKNTL NLQMSRLRAEDTAVYYCAR DGREVWRYYYHYGMDVWGQ GTTQTVSS (SEQ ID NO:364) CDR1: GFMFSNF (SEQ ID NO:204) (Chothia) o NFAMH (SEQ ID NO:205) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o VIWYDGSNKFYADSVKG (SEQ ID NO:206) (Kabat) CDR3: DGREVWRYYYHYGMDV (SEQ ID NO:207)	
1080_G01-CEACAM 5	VH 1080_G01-CEACAM 5_(GH96A)	QVQLVESGGGVVQSGRSLRL SCAASGFMFSNFAMHWVRQ APGKGLEWVGVIWYDGSNK FYADSVKGRFTISRDNKNTL NLQMSRLRAEDTAVYYCAR DAREVWRYYYHYGMDVWGQ GTTQTVSS (SEQ ID NO:365)	

		CDR1: GFMFSNF (SEQ ID NO:204) (Chothia) o NFAMH (SEQ ID NO:205) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o VIWYDGSNKFYADSVKG (SEQ ID NO:206) (Kabat) CDR3: DAREVWRYYYHYGMDV (SEQ ID NO:366)	
1078_C12-CEACAM 5	1078_C12-CEACAM 5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCTASGYTFTGYFIHWVRQAP GQGLEWMGWINPHSGATNY AQKFQGRVTMTDRDTSISTAY MELSSLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:216) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYFIH (SEQ ID NO:218) (Kabat) CDR2: NPHSGA (SEQ ID NO:219) (Chothia) o WINPHSGATNYAQKFQG (SEQ ID NO:220) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQSISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYAASSLQSGVPSRFGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CQQSYGNPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:222) CDR1: RASQSISSYLN (SEQ ID NO:223) CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:224) CDR3: QQSYGNPLT (SEQ ID NO:225)
1078_C12-CEACAM 5	VH_1078_C12-CEACAM 5 (QH1E)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCTASGYTFTGYFIHWVRQAP GQGLEWMGWINPHSGATNY AQKFQGRVTMTDRDTSISTAY MELSSLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:367) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYFIH (SEQ ID NO:218) (Kabat) CDR2: NPHSGA (SEQ ID NO:219) (Chothia) o WINPHSGATNYAQKFQG (SEQ ID NO:220) (Kabat)	

		CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1078_C12-CEACAM 5	VH_1078_C12-CEACAM 5 (MH48I)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCTASGYTFTGYFIHWVRQAP GQGLEWIGWINPHSGATNYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYM ELSSLRSDDTAVYYCARVSY YGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:368) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYFIH (SEQ ID NO:218) (Kabat) CDR2: NPHSGA (SEQ ID NO:219) (Chothia) o WINPHSGATNYAQKFQG (SEQ ID NO:220) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1078_C12-CEACAM 5	VH_1078_C12-CEACAM 5 (MH48V)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCTASGYTFTGYFIHWVRQAP GQGLEWVGWINPHSGATNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY MELSSLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:369) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYFIH (SEQ ID NO:218) (Kabat) CDR2: NPHSGA (SEQ ID NO:219) (Chothia) o WINPHSGATNYAQKFQG (SEQ ID NO:220) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1078_C12-CEACAM 5	VH_1078_C12-CEACAM 5 (MH69I)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCTASGYTFTGYFIHWVRQAP GQGLEWMGWINPHSGATNY AQKFQGRVTITRDTSISTAYM ELSSLRSDDTAVYYCARVSY YGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:370)	

		CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYFIH (SEQ ID NO:218) (Kabat) CDR2: NPHSGA (SEQ ID NO:219) (Chothia) o WINPHSGATNYAQKFQG (SEQ ID NO:220) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1078_C12-CEACAM 5	VH_1078_C12-CEACAM 5 (MH69V)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCTASGYTFTGYFIHWVRQAP GQGLEWMGWINPHSGATNY AQKFQGRVTVTTRDTSISTAY MELSSLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:371) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYFIH (SEQ ID NO:218) (Kabat) CDR2: NPHSGA (SEQ ID NO:219) (Chothia) o WINPHSGATNYAQKFQG (SEQ ID NO:220) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1078_F02-CEACAM 5	1078_F02-CEACAM 5	QVQLQESGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPNSGDTN YAQKFQGRVTMTTRDTSISTA YMELSRLRSDDTAVYYCARV SYYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:227) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNSGD (SEQ ID NO:229) (Chothia) o WINPNSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:230) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID	DIVLTQTPSSLSASVGDRVTIT CWASQSISSYLNWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQSYSTPLTFGGGKLEIK (SEQ ID NO:231) CDR1: WASQSISSYLN (SEQ ID NO:232) CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:224) CDR3: QQSYSTPLT (SEQ ID NO:233)

		NO:221)	
1079_B08-CEACAM 5	1079_B08-CEACAM 5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPSSGDTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:234) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPSSGD (SEQ ID NO:235) (Chothia) o WINPSSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:236) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	EIVLTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQSISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYAASSLQSGVPSRFGS GSGTDFTLTISSLQPEDFATYY CQQSYSNPLTFGGGTKVDIK (SEQ ID NO:237) CDR1: RASQSISSYLN (SEQ ID NO:223) CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:224) CDR3: QQSYSNPLT (SEQ ID NO:238)
1078_F02-CEACAM 5	VH_1078_F02-CEACAM 5 (QH1E)	EVQLQESGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPNSGDTN YAQKFQGRVTMTRDTSISTA YMELSRLRSDDTAVYYCARV SYYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:372) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPHSGA (SEQ ID NO:219) (Chothia) o WINPHSGATNYAQKFQG (SEQ ID NO:220) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1078_F02-CEACAM 5	VH1078_F02-CEACAM 5 (N5H3S)	QVQLQESGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPSSGDTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:373) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH	

		(SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPSSGD (SEQ ID NO:235) (Chothia) o WINPSSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:236) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1078_F02-CEACAM 5	VH1078_F02-CEACAM 5 (SH54A)	QVQLQESGAIEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPNAGDTN YAQKFQGRVTMTRDTSISTA YMELSRLRSDDTAVYYCARV SYYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:374) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNAGD (SEQ ID NO:375) (Chothia) o WINPNAGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:376) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1078_F02-CEACAM 5	VH1078_F02-CEACAM 5 (MH48I)	QVQLQESGAIEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWIGWINPNSGDTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:378) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNSGD (SEQ ID NO:229) (Chothia) o WINPNSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:230) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	

1078_F02-CEACAM 5	VH1078_F02-CEACAM 5 (MH48V)	QVQLQESGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWVGWINPNSGDTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:379) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNSGD (SEQ ID NO:229) (Chothia) o WINPNSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:230) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1078_F02-CEACAM 5	VH1078_F02-CEACAM 5 (MH69I)	QVQLQESGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPNSGDTN YAQKFQGRVTITRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:380) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNSGD (SEQ ID NO:229) (Chothia) o WINPNSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:230) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1078_F02-CEACAM 5	VH1078_F02-CEACAM 5 (MH69V)	QVQLQESGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPNSGDTN YAQKFQGRVTVTTRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:381)	

		CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNSGD (SEQ ID NO:229) (Chothia) o WINPNSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:230) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1078_F02-CEACAM 5	VH1078_F02-CEACAM 5 (MH80I)	QVQLQESGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPNSGDTN YAQKFQGRVTMTRDTSISTA YIELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:382) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNSGD (SEQ ID NO:229) (Chothia) o WINPNSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:230) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1078_F02-CEACAM 5	VH1078_F02-CEACAM 5 (MH80V)	QVQLQESGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPNSGDTN YAQKFQGRVTMTRDTSISTA YVELSRLRSDDTAVYYCARV SYYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:383) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNSGD (SEQ ID NO:229) (Chothia) o WINPNSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:230) (Kabat)	

		CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1079_B08-CEACAM 5	VH 1079_B08-CEACAM 5 (QH1E)	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPSSGDTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:384) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPSSGD (SEQ ID NO:235) (Chothia) o WINPSSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:236) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1079_B08-CEACAM 5	VH 1079_B08-CEACAM 5 (MH48I)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWIGWINPSSGDTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:385) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPSSGD (SEQ ID NO:235) (Chothia) o WINPSSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:236) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1079_B08-CEACAM 5	VH 1079_B08-CEACAM 5 (MH48V)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWVGWINPSSGDTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS	

		(SEQ ID NO:386) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPSSGD (SEQ ID NO:235) (Chothia) o WINPSSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:236) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1079_B08-CEACAM 5	VH 1079_B08-CEACAM 5 (MH69I)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPSSGDTNY AQKFQGRVTITRDTISISTAYM ELSRLRSDDTAVYYCARVSY YGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:387) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPSSGD (SEQ ID NO:235) (Chothia) o WINPSSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:236) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1079_B08-CEACAM 5	VH 1079_B08-CEACAM 5 (MH69V)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPSSGDTNY AQKFQGRVTVTTRDTISISTAY MELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:388) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPSSGD (SEQ ID NO:235) (Chothia) o	

		WINPSSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:236) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1079_B08-CEACAM 5	VH 1079_B08-CEACAM 5 (MH80I)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPSSGDTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAYI ELSRLRSDDTAVYYCARVSY YGLDVWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:389) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPSSGD (SEQ ID NO:235) (Chothia) o WINPSSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:236) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1079_B08-CEACAM 5	VH 1079_B08-CEACAM 5 (MH80V)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPSSGDTNY AQKFQGRVTMTRDTSISTAY VELSRLRSDDTAVYYCARVS YYGLDVWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:390) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPSSGD (SEQ ID NO:235) (Chothia) o WINPSSGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:236) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	
1078_G03-CEACAM 5	1078_G03-CEACAM 5	QVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSYAMSWVRQA PGKGLEWVSEISGSGDRTSYA	DIRMTQSPSTLSASVGDRVIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESQVPSRFSG

		DSVKGRFTISRDN SKNRLYLQ MNRLRTEDTAVYYCAKDLGP SGWYGLFDYWGQGLVTVS S (SEQ ID NO:160) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGDR (SEQ ID NO:161) (Chothia) o EISGSGDRTSYADSVKG (SEQ ID NO:162) (Kabat) CDR3: DLGPGWYGLFDY (SEQ ID NO:163)	SGSGTEFTLTISLQPDDEFATY YCQQYNSYSTWTFGQGTKVD IK (SEQ ID NO:164) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSTWT (SEQ ID NO:166)
1078_G03- CEACAM 5	VH 1078_G03- CEACAM 5 (QH1E)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSEISGSGDRTSYA DSVKGRFTISRDN SKNRLYLQ MNRLRTEDTAVYYCAKDLGP SGWYGLFDYWGQGLVTVS S (SEQ ID NO:352) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGDR (SEQ ID NO:161) (Chothia) o EISGSGDRTSYADSVKG (SEQ ID NO:162) (Kabat) CDR3: DLGPGWYGLFDY (SEQ ID NO:163)	
1078_G03- CEACAM 5	VH 1078_G03- CEACAM 5 (SH62A)	QVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLEWVSEISGSGDRTSYA DAVKGRFTISRDN SKNRLYL QMNRLRTEDTAVYYCAKDL GPSGWYGLFDYWGQGLVT VSS (SEQ ID NO:353) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID	

		NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGDR (SEQ ID NO:161) (Chothia) o EISGSGDRTSYADSVKG (SEQ ID NO:162) (Kabat) CDR3: DLGPSGWYGLFDY (SEQ ID NO:163)	
1079_A10-CEACAM 5	1079_A10-CEACAM 5	QVQLVESGAIEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPNNGDTN YAQKFQGRVTMTRDTSISTA YMELSRRLRSDDTAVYYCARV SYYGLDVWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:243) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNNGD (SEQ ID NO:244) (Chothia) o WINPNNGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:245) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	DIRMTQSPSSLSASVGDRVTH CRASQSISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYAASSLQSGVPSRFGS GSGTDFLTITSLQPEDFATYY CQQSYSNPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:246) CDR1: RASQSISSYLN (SEQ ID NO:223) CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:224) CDR3: QQSYSNPLT (SEQ ID NO:238)
1079_A10-CEACAM 5	1079_A10-CEACAM 5_VH Variante	EVQLVESGAIEVKKPGASVKV SCKASGYTFTGYYLHWVRQA PGQGLEWMGWINPNNGDTN YAQKFQGRVTMTRDTSISTA YMELSRRLRSDDTAVYYCARV SYYGLDVWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO:247) CDR1: GYTFTGY (SEQ ID NO:217) (Chothia) o GYYLH (SEQ ID NO:228) (Kabat) CDR2: NPNNGD (SEQ ID NO:244) (Chothia) o WINPNNGDTNYAQKFQG (SEQ ID NO:245) (Kabat) CDR3: VSYYGLDV (SEQ ID NO:221)	DIRMTQSPSSLSASVGDRVTH CRASQSISSYLNWYQQKPGKA PKLLIYAASSLQSGVPSRFGS GSGTDFLTITSLQPEDFATYY CQQSYSNPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:246) CDR1: RASQSISSYLN (SEQ ID NO:223) CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:224) CDR3: QQSYSNPLT (SEQ ID NO:238)

1079_A12-CEACAM 5	1079_A12-CEACAM 5	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMNWVRQA PGKGLEWVSGISGSGGSTKY AESVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRADDTAVYYCAKDQ DINVWYGLFPYWGQGLVTV SS (SEQ ID NO:249) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMN (SEQ ID NO:250) (Kabat) CDR2: SGSGGS (SEQ ID NO:251) (Chothia) o GISGSGGSTKYAESVKG (SEQ ID NO:253) (Kabat) CDR3: DQDINVWYGLFPY (SEQ ID NO:254)	DIVLTQTPSSLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDDEFATY YCQQYNSYSPLTFGGGTKVDI K (SEQ ID NO:255) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSPLT (SEQ ID NO:256)
1079_A12-CEACAM 5	1079_A12-CEACAM 5_VH Variante	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMNWVRQA PGKGLEWVSGISGSGGSTKY AESVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRADDTAVYYCAKDQ DINVWYGLFPYWGQGLVTV SS (SEQ ID NO:257) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMN (SEQ ID NO:250) (Kabat) CDR2: SGSGGS (SEQ ID NO:251) (Chothia) o GISGSGGSTKYAESVKG (SEQ ID NO:253) (Kabat) CDR3: DQDINVWYGLFPY (SEQ ID NO:254)	DIVLTQTPSSLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDDEFATY YCQQYNSYSPLTFGGGTKVDI K (SEQ ID NO:255) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSPLT (SEQ ID NO:256)
1078_C04-CEACAM 5	1078_C04-CEACAM 5	EVQLVESGGGVVQPGRSLRL SCAASGFTFSSSGMHWVRQA PGKGLEWVAVIWDGSKNY YVDSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARD GRQQLVQGSYYYGMDVWG QGTTVTVSS (SEQ ID NO:259) CDR1: GFTFSSS (SEQ ID NO:260) (Chothia) o SSGMH	EIVMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPDDEFATY YCQQYKSYSTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:263) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165)

		(SEQ ID NO:261) (Kabat) CDR2: WYDGSN (SEQ ID NO:70) (Chothia) o VIWYDGSNKYYVDSVKG (SEQ ID NO:262) (Kabat) CDR3: DGRQQLVQGSYYYGMDV (SEQ ID NO:265)	CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYKSYSYT (SEQ ID NO:264)
1080_F11-CEACAM 5	1080_F11-CEACAM 5	QVQLVQSGGGLVQRGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLERVSGISGSGGNTYYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRADDTAVYYCARDQDI NVWYGLFAYWGQGLTVTS S (SEQ ID NO:266) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGGN (SEQ ID NO:267) (Chothia) o GISGSGGNTYYADSVKG (SEQ ID NO:268) (Kabat) CDR3: DQDINVWYGLFAY (SEQ ID NO:269)	DIVMTQTPSTLSASVGDRVIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDFFATY YCQQYNSYFMYTFGQGTKVE IK (SEQ ID NO:270) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYFMYT (SEQ ID NO:271)
1080_F11-CEACAM 5	1080_F11-CEACAM 5_VH Variante	EVQLVQSGGGLVQRGGSLRL SCAASGFTFSSYAMSWVRQA PGKGLERVSGISGSGGNTYYA DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ MNSLRADDTAVYYCARDQDI NVWYGLFAYWGQGLTVTS S (SEQ ID NO:272) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGGN (SEQ ID NO:267) (Chothia) o GISGSGGNTYYADSVKG (SEQ ID NO:268) (Kabat) CDR3: DQDINVWYGLFAY (SEQ ID NO:269)	DIVMTQTPSTLSASVGDRVIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDFFATY YCQQYNSYFMYTFGQGTKVE IK (SEQ ID NO:270) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYFMYT (SEQ ID NO:271)

1081_E01- CEACAM 5	1081_E01- CEACAM 5	QVQLQESGPGGLVKPSETLSLT CAVSGYSSSGYYWGWIRQPP GKGLEWIGTIWHSNSTYDNPS LKSRTISVDTSKNQFSLKLSS VTTADTAVYYCARADSSGW YEDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:274) CDR1: GYSSSGY (SEQ ID NO:275) (Chothia) o SGYYWG (SEQ ID NO:276) (Kabat) CDR2: WHSGLS (SEQ ID NO:277) (Chothia) o TIWHSNSTYDNPSLKS (SEQ ID NO:278) (Kabat) CDR3: ADSSGWYEDY (SEQ ID NO:279)	DIVMTQTPSTLSASVGDRVTIT CRASQSSSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:280) CDR1: RASQSSSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQSYSTPLT (SEQ ID NO:233)
1081_E01- CEACAM 5	1081_E01- CEACAM 5_VH Variante	EVQLQESGPGGLVKPSETLSLT CAVSGYSSSGYYWGWIRQPP GKGLEWIGTIWHSNSTYDNPS LKSRTISVDTSKNQFSLKLSS VTTADTAVYYCARADSSGW YEDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:281) CDR1: GYSSSGY (SEQ ID NO:275) (Chothia) o SGYYWG (SEQ ID NO:276) (Kabat) CDR2: WHSGLS (SEQ ID NO:277) (Chothia) o TIWHSNSTYDNPSLKS (SEQ ID NO:278) (Kabat) CDR3: ADSSGWYEDY (SEQ ID NO:279)	DIVMTQTPSTLSASVGDRVTIT CRASQSSSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQSYSTPLTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:280) CDR1: RASQSSSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQSYSTPLT (SEQ ID NO:233)
1083_A05- CEACAM 5	1083_A05- CEACAM 5	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFIFSSYAMSWVRQA PGRGLEWVSGISGSGGSTNY ADSVKGRFTISRDNSTNTLYL QMNSLRADDTAVYFCAKDL DINVWYGLFDHWGQGTTVT VSS (SEQ ID NO:283) CDR1: GFIFSSY (SEQ ID NO:284) (Chothia) o SYAMS	DIQVTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSSSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDDEFATY YCQQYNSYSTWTFGQGKLEI K (SEQ ID NO:286) CDR1: RASQSSSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID

		(SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGGS (SEQ ID NO:251) (Chothia) o GISGSGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO:252) (Kabat) CDR3: DLDINVWYGLFDH (SEQ ID NO:285)	NO:8) CDR3: QQYNSYSTWT (SEQ ID NO:166)
1083_A05-CEACAM 5	1083_A05-CEACAM 5_VH Variante	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFIFSSYAMSWVRQA PGRGLEWVSGISGSGGSTNY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRADDTAVYFCAKDL DINVWYGLFDHWGQGTTVT VSS (SEQ ID NO:287) CDR1: GFIFSSY (SEQ ID NO:284) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGSGGS (SEQ ID NO:251) (Chothia) o GISGSGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO:252) (Kabat) CDR3: DLDINVWYGLFDH (SEQ ID NO:285)	DIQVTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPDDEFATY YCQQYNSYSTWTFGQGTKLEI K (SEQ ID NO:286) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSTWT (SEQ ID NO:166)
1085_D12-CEACAM 5	1085_D12-CEACAM 5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFIFSSYAMN WVRQA PGRGLEWVSGISGSGGSTNY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRADDTAVYFCARDQ DINVWYGLFVYWGQGT LVT VSS (SEQ ID NO:288) CDR1: GFIFSSY (SEQ ID NO:284) (Chothia) o SYAMN (SEQ ID NO:250) (Kabat) CDR2: SGSGGS (SEQ ID NO:251) (Chothia) o GISGSGGSTNYADSVKG (SEQ ID NO:252) (Kabat) CDR3: DQDINVWYGLFVY (SEQ ID NO:290)	DIRLTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSMQPDDEFATY YCQQYNSYSTWTFGQGTKVE IK (SEQ ID NO:291) CDR1: RASQSISSWLA (SEQ ID NO:165) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) CDR3: QQYNSYSTWT (SEQ ID NO:166)
1079_G12-	1079_G12-	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRL	DIVMTQTPSSLSASVGDRVTIT

CEACAM 5	CEACAM 5	SCAASGFTFSSYAMNWVRQA PGKGLEWVSVISGNGGYTHY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEGTAVYYCAKDD WGGAFDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:292) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMN (SEQ ID NO:250) (Kabat) CDR2: SGNGGY (SEQ ID NO:293) (Chothia) o VISGNGGYTHYADSVKG (SEQ ID NO:294) (Kabat) CDR3: DDWGGAFDI (SEQ ID NO:295)	CRASQGISNYLAWYQQKPGK VPKLLIYAAS TLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTIS SLQPEDVATY YCQKYNSAPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:296) CDR1: RASQGISNYLA (SEQ ID NO:127) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QKYNSAPRT (SEQ ID NO:297)
1079_G12- CEACAM 5	1079_G12- CEACAM 5_VH Variante	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSSYAMNWVRQA PGKGLEWVSVISGNGGYTHY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEGTAVYYCAKDD WGGAFDIWGQGTTVTVSS (SEQ ID NO:298) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMN (SEQ ID NO:250) (Kabat) CDR2: SGNGGY (SEQ ID NO:293) (Chothia) o VISGNGGYTHYADSVKG (SEQ ID NO:294) (Kabat) CDR3: DDWGGAFDI (SEQ ID NO:295)	DIVMTQTPSSLSASVGDRVTIT CRASQGISNYLAWYQQKPGK VPKLLIYAAS TLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTIS SLQPEDVATY YCQKYNSAPRTFGQGTKVEIK (SEQ ID NO:296) CDR1: RASQGISNYLA (SEQ ID NO:127) CDR2: AASTLQS (SEQ ID NO:128) CDR3: QKYNSAPRT (SEQ ID NO:297)
1080_A01- CEACAM 5	1080_A01- CEACAM 5	EVQLVQSGGGLVQPGGSVRL SCAASGFTFSSYAMNWVRQG PGKGLEWVSVISGNGGYTHY ADSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNGLRADDTAVYYCAKDD WGGAFDIWGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:299) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMN (SEQ ID NO:250) (Kabat)	DIRMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQGISNYLAWYQQKPGK VPKLLIYAAS TLQSGVPSRFSG SGSGTDFTLTIS SLQPEDVATY YCQKYNSAPRTFGQGTKVDIK (SEQ ID NO:300) CDR1: RASQGISNYLA (SEQ ID NO:127) CDR2: AASTLQS (SEQ ID

		CDR2: SGNGGY (SEQ ID NO:293) (Chothia) o VISGNGGYTHYADSVKG (SEQ ID NO:294) (Kabat) CDR3: DDWGGAFDI (SEQ ID NO:295)	NO:128) CDR3: QKYNSAPRT (SEQ ID NO:297)
12C7.A2-CEACAM 5-B.01	12C7.A2-CEACAM 5-B.01	QVQLVESGGGVVQPGRSLRL SCAASGFTFSNYAMHWVRQ APGKGLEWVTLIWYDGSKKY YADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARD RAIPLIAPYFDYWGQGLTVTV SS (SEQ ID NO:303) CDR1: GFTFSNY (SEQ ID NO:304)(Chothia) o NYAMH (SEQ ID NO:305) (Kabat) CDR2: WYDGSK (SEQ ID NO:306) (Chothia) o LIWYDGSKKYYADSVKG (SEQ ID NO:307) (Kabat) CDR3: DRAIPLIAPYFDY (SEQ ID NO:308)	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTIT CRASQGISSYLAWYQQKPGK APKLLIFPASTLQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCQQLNFFPPTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:309) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: PASTLQS (SEQ ID NO:310) CDR3: QQLNFFPPT (SEQ ID NO:311)
12C7.A2-CEACAM 5-B.01	12C7.A2-CEACAM 5-B.01 _VH Variante	EVQLVESGGGVVQPGRSLRL SCAASGFTFSNYAMHWVRQ APGKGLEWVTLIWYDGSKKY YADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCARD RAIPLIAPYFDYWGQGLTVTV SS (SEQ ID NO:312) CDR1: GFTFSNY (SEQ ID NO:304) (Chothia) o NYAMH (SEQ ID NO:305) (Kabat) CDR2: WYDGSK (SEQ ID NO:306) (Chothia) o LIWYDGSKKYYADSVKG (SEQ ID NO:307) (Kabat) CDR3: DRAIPLIAPYFDY (SEQ ID NO:308)	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTIT CRASQGISSYLAWYQQKPGK APKLLIFPASTLQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCQQLNFFPPTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:309) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: PASTLQS (SEQ ID NO:310) CDR3: QQLNFFPPT (SEQ ID NO:311)
12C7.A2-CEACAM 5-B.01	12C7.A2-CEACAM 5-	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLT CTVSGGPIYSYWSWIRQPPG KGLEWIGFIYSSGSTNYNPSL	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTIT CRASQGISSYLAWYQQKPGK APKLLIFPASTLQSGVPSRFSG

	B.01_VH2	KSRVTISIDTSKSQFSLRLSSV TAADTAVYYCARGGDAFDI WGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:691) CDR1: GGPIYSY (SEQ ID NO:315) (Chothia) o SYYWS (SEQ ID NO:316) (Kabat) CDR2: YSSGS (SEQ ID NO:317) (Chothia) o FIYSSGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO:318) (Kabat) CDR3: GGDAFDI (SEQ ID NO:319)	SGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCQQLNFFPPTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:309) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: PASTLQS (SEQ ID NO:310) CDR3: QQLNFFPPT (SEQ ID NO:311)
12A6.H2- CEACAM 5-B.01	12A6.H2- CEACAM 5-B.01	QVQLVESGPGVLVKPSETLSLT CTVSGGPIYSYYWSWIRQPPG KGLEWIGFIYSSGSTNYNPSL KSRVTISIDTSKSQFSLRLSSV TAADTAVYYCARGGDAFDI WGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:314) CDR1: GGPIYSY (SEQ ID NO:315) (Chothia) o SYYWS (SEQ ID NO:316) (Kabat) CDR2: YSSGS (SEQ ID NO:317) (Chothia) o FIYSSGSTNYNPSLKS (SEQ ID NO:318) (Kabat) CDR3: GGDAFDI (SEQ ID NO:319)	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTIT CRASQGISSYLAWYQQKPGK APKLLIFPASTLQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCQQLNFFPPTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:309) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: PASTLQS (SEQ ID NO:310) CDR3: QQLNFFPPT (SEQ ID NO:311)
12A6.H2- CEACAM 5-B.01	12A6.H2- CEACAM 5-B.01 _VH Variante	EVQLVESGPGVLVKPSETLSLT CTVSGGPIYSYYWSWIRQPPG KGLEWIGFIYSSGSTNYNPSL KSRVTISIDTSKSQFSLRLSSV TAADTAVYYCARGGDAFDI WGQGTMTVTVSS (SEQ ID NO:320) CDR1: GGPIYSY (SEQ ID NO:315) (Chothia) o SYYWS (SEQ ID NO:316) (Kabat) CDR2: YSSGS (SEQ ID NO:317) (Chothia) o	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTIT CRASQGISSYLAWYQQKPGK APKLLIFPASTLQSGVPSRFSG SGSGTEFTLTISLQPEDFATY YCQQLNFFPPTFGPGTKVDIK (SEQ ID NO:309) CDR1: RASQGISSYLA (SEQ ID NO:131) CDR2: PASTLQS (SEQ ID NO:310) CDR3: QQLNFFPPT (SEQ ID

		FIYSSGSTNYPNPSLKS (SEQ ID NO:318) (Kabat) CDR3: GGDAFDI (SEQ ID NO:319)	NO:311)
4G3.C3-CEACAM 5-B.01	4G3.C3-CEACAM 5-B.01	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLSSYYWSWIRQPPGKGLEWLGYYIYSSGSVNYPNPSLKSRVTMSIDTSQNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDADYFDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:322) CDR1: GGSLSSY (SEQ ID NO:323) (Chothia) o SYYWS (SEQ ID NO:316) (Kabat) CDR2: YSSGS (SEQ ID NO:317) (Chothia) o YIYSSGSVNYPNPSLKS (SEQ ID NO:324) (Kabat) CDR3: DADYFDY (SEQ ID NO:325)	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGTSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAVSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPTDFATY YCQQVIRYPPTFGQGTKVEVK (SEQ ID NO:326) CDR1: RASQGTSSYLA (SEQ ID NO:327) CDR2: AVSTLQS (SEQ ID NO:328) CDR3: QQVIRYPPT (SEQ ID NO:329)
4G3.C3-CEACAM 5-B.01	4G3.C3-CEACAM 5-B.01_VH Variante	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSLSSYYWSWIRQPPGKGLEWLGYYIYSSGSVNYPNPSLKSRVTMSIDTSQNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDADYFDYWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:330) CDR1: GGSLSSY (SEQ ID NO:323) (Chothia) o SYYWS (SEQ ID NO:316) (Kabat) CDR2: YSSGS (SEQ ID NO:317) (Chothia) o YIYSSGSVNYPNPSLKS (SEQ ID NO:324) (Kabat) CDR3: DADYFDY (SEQ ID NO:325)	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGTSSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAVSTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPTDFATY YCQQVIRYPPTFGQGTKVEVK (SEQ ID NO:326) CDR1: RASQGTSSYLA (SEQ ID NO:327) CDR2: AVSTLQS (SEQ ID NO:328) CDR3: QQVIRYPPT (SEQ ID NO:329)
6D10.C8-CEACAM 5-B.02	6D10.C8-CEACAM 5-B.02_VH y	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMGWINTYTGEPTYTDDFKGRFAFSLETSASTAYLQITNLKNEDTATYFCARGD	QIVLTQSPAIMASAPGEKVTLT CSPSSSVTYMHWYQQKSGTSPKRWIYDTSKLASGVPARFSGIGSGTSYSLTINSMEAEDAATY YCQQWNNYPYTFGGGTRLEI

	6D10.C8-CEACAM5-B.02_VL	GFDRGFAYWGQGLTVSA (SEQ ID NO:692) CDR1: GYTFTNY (SEQ ID NO:693) (Chothia) o NYGMN (SEQ ID NO:694) (Kabat) CDR2: NTYTGE (SEQ ID NO:695) (Chothia) o WINTYTGEPTYTDDFKG (SEQ ID NO:696) (Kabat) CDR3: GDGFDRGFAY (SEQ ID NO:697)	T (SEQ ID NO:698) CDR1: SPSSSVTYMH (SEQ ID NO:658) CDR2: DTSKLAS (SEQ ID NO:659) CDR3: QQWNNYPYT (SEQ ID NO:660)
--	-------------------------	---	--

[0206] En determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5 (p. ej., CEACAM5 de ser humano, p. ej., CEACAM5 de macaco *cynomolgus*) comprende un dominio variable de cadena pesada (VH) de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica al VH de un anticuerpo desvelado en la Tabla 3, y un dominio variable de cadena ligera (VL) de anticuerpo que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica al VL del mismo anticuerpo desvelado en las Tablas 3 o 4. En determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada y la CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena ligera, determinado según Kabat (véase Kabat *et al.*, (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, publicación del NIH N.º 91-3242, Bethesda), Chothia (véase, p. ej., Chothia C y Lesk A M, (1987), *J Mol Biol* 196: 901-917), MacCallum (véase MacCallum R M *et al.*, (1996) *J Mol Biol* 262: 732-745), o cualquier otro método de determinación de CDR conocido en la técnica, de las secuencias de VH y VL de un sitio de unión a antígeno desvelado en las Tablas 3 o 4. En determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de cadena pesada y la CDR1, CDR2 y CDR3 cadena ligera de un sitio de unión a antígeno desvelado en la Tabla 3 o 4.

[0207] En determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno está relacionado con un scFv que tiene un VH y VL de la Tabla 3. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos

94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de un VH de la Tabla 3. En determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno comprende un VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de un VL de la Tabla 3. En determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de un VL de la Tabla 3, y un VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a una secuencia de aminoácidos de un VL de la Tabla 3, en donde las secuencias de VH y VL se seleccionan de un par de secuencias análogas enumeradas en la Tabla 3.

[0208] En determinadas realizaciones, el VH comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 seleccionadas de una secuencia de VH enumerada en la Tabla 3. En determinadas realizaciones, el VL comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 seleccionadas de una secuencia de VL enumerada en la Tabla 3. En determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno comprende (a) un VH que comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 seleccionada de una secuencia de VH enumerada en la Tabla 3; y (b) un VL que comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 seleccionada de una secuencia de VL enumerada en la Tabla 3, en donde las secuencias de VH y VL se seleccionan de un par de secuencias análogas enumeradas en la Tabla 3.

[0209] En determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno está relacionado con un scFv que tiene un VH y VL de la Tabla 4. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de un VH de la Tabla 4. En determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno comprende un VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de un VL de la Tabla 4. En determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos

94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de aminoácidos de un VH de la Tabla 4, y un VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a una secuencia de aminoácidos de un VL de la Tabla 4, en donde el VH y VL de la Tabla 4 se seleccionan del mismo clon enumerado en la Tabla 4.

[0210] En determinadas realizaciones, el VH comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de una secuencia de VH seleccionada de la Tabla 4. En determinadas realizaciones, el VL comprende la CDR1, CDR2 y CDR3 de una secuencia de VL seleccionada de la Tabla 4. En determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno comprende (a) un VH que comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de una secuencia de VH seleccionada de la Tabla 4; y (b) un VL que comprende una CDR1, CDR2 y CDR3 de una secuencia de VL seleccionada de la Tabla 4, en donde el VH y VL de la Tabla 4 se seleccionan del mismo clon enumerado en la Tabla 4.

[0211] En cada una de las realizaciones anteriores, en el presente documento se contempla que las secuencias de VH y/o VL, que se unen conjuntamente a CEACAM5, puedan contener alteraciones de aminoácidos (p. ej., al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 10 sustituciones, deleciones o adiciones de aminoácidos) en las regiones marco del VH y/o VL sin afectar significativamente a su capacidad para unirse a CEACAM5.

[0212] En determinadas realizaciones, un sitio de unión a antígeno de la presente invención que procede de un par análogo del Nivel 1 de la Tabla 3 o que procede de un clon del Nivel 1 de la Tabla 4, se une a CEACAM5 de ser humano o a una variante de CEACAM5 o a la región extracelular de la misma a un valor de K_D inferior o igual a 25 nM (p. ej., inferior o igual a 24 nM, 23 nM, 22 nM, 21 nM, 20 nM, 19 nM, 18 nM, 17 nM, 16 nM, 15 nM, 14 nM, 13 nM, 12 nM, 11 nM, 10 nM, 9 nM, 8 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM o 1 nM). Se entiende que un valor de K_D más pequeño indica una mayor afinidad. En determinadas realizaciones, un sitio de unión a antígeno de la presente invención que procede de un par análogo del Nivel 2 de la Tabla 3 o que procede de un clon del Nivel 2 de la Tabla 4, se une a CEACAM5 de ser humano o a una variante de CEACAM5 o a la región extracelular de la misma a un valor de K_D superior o igual a 15 nM (p. ej., superior o igual a 20 nM, 25 nM, 30 nM, 40 nM, 50 nM, 60 nM, 70 nM, 80 nM, 90 nM, 100 nM, 110 nM, 120 nM, 130 nM, 140 nM, 150 nM, 160 nM, 170 nM, 180 nM, 190 nM, 200 nM, 220 nM, 240 nM, 260 nM, 280 nM, 300 nM, 320 nM, 340 nM, 360 nM, 380 nM, 400 nM, 420 nM, 440 nM, 460 nM, 480 nM, 500 nM, 520 nM, 540 nM o 560 nM). En determinadas realizaciones, un sitio de unión a antígeno de la presente invención que procede de un par análogo del Nivel 2 de la Tabla 3 o que procede de un clon del Nivel 2 de

la Tabla 4 se une a CEACAM5 de ser humano o a una variante de CEACAM5 o a la región extracelular de la misma a un valor de K_D en el intervalo de 15-560 nM, 15-400 nM, 15-300 nM, 15-200 nM, 15-100 nM, 15-80 nM, 20-560 nM, 20-400 nM, 20-300 nM, 20-200 nM, 20-100 nM, 20-80 nM, 25-100 nM, 25-560 nM, 25-400 nM, 25-300 nM, 25-200 nM, 25-100 nM, 25-80 nM, 50-560 nM, 50-400 nM, 50-300 nM, 50-200 nM, 50-100 nM, 50-80 nM, 100-560 nM, 100-400 nM, 100-300 nM, 100-200 nM, 120-560 nM, 120-400 nM, 120-300 nM o 120-200 nM.

[0213] En determinadas realizaciones, el sitio de unión a antígeno, como se desvela en el presente documento, comprende secuencias de VH y VL que son al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idénticas a las secuencias de VH y VL, respectivamente, de un par análogo del Nivel 1 de la Tabla 3 o un clon del Nivel 1 de la Tabla 4, y se une a una CEACAM5 de ser humano o a una variante de CEACAM5 o a la región extracelular de la misma a un valor de K_D inferior o igual a 25 nM (p. ej., inferior o igual a 24 nM, 23 nM, 22 nM, 21 nM, 20 nM, 19 nM, 18 nM, 17 nM, 16 nM, 15 nM, 14 nM, 13 nM, 12 nM, 11 nM, 10 nM, 9 nM, 8 nM, 7 nM, 6 nM, 5 nM, 4 nM, 3 nM, 2 nM o 1 nM). En determinadas realizaciones, el sitio de unión a antígeno, como se desvela en el presente documento, comprende secuencias de VH y VL que son al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idénticas a las secuencias de VH y VL, respectivamente, de un par análogo del Nivel 2 de la Tabla 3 o un clon del Nivel 2 de la Tabla 4, y se une a CEACAM5 de ser humano o a una variante de CEACAM5 o a la región extracelular del mismo con un valor de K_D superior o igual a 15 nM (p. ej., superior o igual a 20 nM, 25 nM, 30 nM, 40 nM, 50 nM, 60 nM, 70 nM, 80 nM, 90 nM, 100 nM, 110 nM, 120 nM, 130 nM, 140 nM, 150 nM, 160 nM, 170 nM, 180 nM, 190 nM, 200 nM, 220 nM, 240 nM, 260 nM, 280 nM, 300 nM, 320 nM, 340 nM, 360 nM, 380 nM, 400 nM, 420 nM, 440 nM, 460 nM, 480 nM, 500 nM, 520 nM, 540 nM o 560 nM). En determinadas realizaciones, el sitio de unión a antígeno, como se desvela en el presente documento, comprende secuencias de VH y VL que son al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idénticas a las secuencias de VH y VL, respectivamente, de un par análogo del Nivel 2 de la Tabla 3 o un clon del Nivel 2 de la Tabla 4, y se une a CEACAM5 de ser humano o a una variante de CEACAM5 o a la región extracelular del mismo a un valor de K_D el intervalo de 15-560 nM, 15-400 nM, 15-300 nM, 15-200 nM, 15-100 nM, 15-80 nM, 20-560 nM, 20-400 nM, 20-300 nM, 20-200 nM, 20-100 nM, 20-80 nM, 25-100 nM, 25-560 nM, 25-400 nM, 25-300 nM, 25-200 nM, 25-100 nM, 25-80 nM,

50-560 nM, 50-400 nM, 50-300 nM, 50-200 nM, 50-100 nM, 50-80 nM, 100-560 nM, 100-400 nM, 100-300 nM, 100-200 nM, 120-560 nM, 120-400 nM, 120-300 nM o 120-200 nM.

[0214] En determinadas realizaciones, un sitio de unión a antígeno de la presente invención que procede de un par análogo del Nivel 1 o Nivel 2 de la Tabla 3 o un clon del Nivel 1 o Nivel 2 de la Tabla 4 no se une a CEACAM1, CEACAM6 o CEACAM8 a un nivel detectable (p. ej., según lo detectado mediante resonancia de plasmón superficial (SPR, *surface plasmon resonance*) o ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA, *enzyme-linked immunosorbent assay*) para la unión *in vitro*, o mediante citometría de flujo para la unión a células que expresan el antígeno respectivo). En determinadas realizaciones, un sitio de unión a antígeno de la presente invención que procede de un par análogo del Nivel 3 de la Tabla 3 o de un clon del Nivel 3 de la Tabla 4 se une a CEACAM1, CEACAM6 o CEACAM8 a un nivel detectable (p. ej., con un valor de K_D superior o igual a 100 nM, 200 nM, 500 nM, 1 μ M, 2 μ M, 5 μ M o 10 μ M).

[0215] En determinadas realizaciones, el sitio de unión a antígeno, como se desvela en el presente documento, comprende secuencias de VH y VL que son al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idénticas a las secuencias de VH y VL, respectivamente, de un par análogo de Nivel 1 o Nivel 2 de la Tabla 3 o de un clon de Nivel 1 o Nivel 2 de la Tabla 4, y no se une a CEACAM1, CEACAM6 o CEACAM8 a un nivel detectable (p. ej., según lo detectado mediante resonancia de plasmón superficial o ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA) para la unión *in vitro*, o mediante citometría de flujo para la unión a células que expresan el antígeno respectivo). En determinadas realizaciones, el sitio de unión a antígeno, como se desvela en el presente documento, comprende secuencias de VH y VL que son al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idénticas a las secuencias de VH y VL, respectivamente, de un par análogo de Nivel 3 de la Tabla 3 o de un clon de Nivel 3 de la Tabla 4, y se une a CEACAM1, CEACAM6 o CEACAM8 a un nivel detectable (p. ej., con un valor de K_D superior o igual a 100 nM, 200 nM, 500 nM, 1 μ M, 2 μ M, 5 μ M o 10 μ M).

[0216] En determinadas realizaciones de uno cualquiera de los sitios de unión a antígeno desvelados en el presente documento, cuando el aminoácido aminoterminal de una región variable de cadena pesada es Gln (Q), la Q puede reemplazarse por Glu (E), generando así una variante denominada "QE". En determinadas realizaciones de uno cualquiera de los sitios de unión a antígeno desvelados en el presente documento, cuando el aminoácido aminoterminal de una región variable de cadena pesada es Gln (Q) o Glu (E), la Q o E puede reemplazarse por

piroglutamato (pE). Un sitio de unión a antígeno generado a partir de dicho reemplazo se encuentra dentro del mismo nivel que el sitio de unión a antígeno precursor.

[0217] En determinadas realizaciones, el segundo sitio de unión a antígeno compite por la unión a CEACAM5 (p. ej., CEACAM5 de ser humano, p. ej., CEACAM5 de *cynomolgus*) con un sitio de unión a antígeno descrito anteriormente. En determinadas realizaciones, el sitio de unión a antígeno de la presente invención compite con un sitio de unión a antígeno relacionado con un clon seleccionado de la Tabla 2, en donde los clones se seleccionan del grupo que consiste en: Clon PH_420 CEACAM5, Clon 1078_C04 CEACAM5, Clon 1079_H05-CEACAM5, 7A10.A7-CEACAM5-B.01, 8H2.B10-CEACAM5-B.01, 16F6.A2-CEACAM5-B.02 de murino, 16F6.A2-CEACAM5-B.02-BM humanizada, PH_415-CEACAM5, PH_416-CEACAM5, PH_418-CEACAM5, PH_419-CEACAM5, PH_417-CEACAM5, PH_421-CEACAM5, 1078_G03-CEACAM5, 1A1.A3-CEACAM5-B.02 de murino, 1A1.A3-CEACAM5-B.02-BM humanizada, 1080_G01-CEACAM5, 1078_C12-CEACAM5, 1078_F02-CEACAM5, 1079_B08-CEACAM5, 1078_G03-CEACAM5, 1079_A10-CEACAM5, 1079_A12-CEACAM5, 1078_C04-CEACAM5, 1080_F11-CEACAM5, 1081_E01-CEACAM5, 1083_A05-CEACAM5, 1085_D12-CEACAM5, 1079_G12-CEACAM5, 1080_A01-CEACAM5, 12C7.A2-CEACAM5-B.01, 12A6.H2-CEACAM5-B.01, 4G3.C3-CEACAM5-B.01, 4B10.B3-CEACAM5-A.02, 13C7.A6-CEACAM5-B.02, 7E11.B2-CEACAM5-B.02, 10D6.E3-CEACAM5-B.02, 13C7.F2-CEACAM5-B.02, 16B11.G2-CEACAM5-B.01 y 6D10.C8-CEACAM5-B.02. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno de la presente invención compite con un sitio de unión a antígeno que comprende una secuencia de VL y una secuencia de VH seleccionadas de la Tabla 1, en donde la secuencia de VH y la secuencia de VL son de un par análogo de la Tabla 1 o de un clon de la Tabla 2. En algunas realizaciones, el sitio de unión a antígeno de la presente invención compite con un sitio de unión a antígeno que comprende una CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en donde las CDR se seleccionan de un par análogo enumerado en la Tabla 1 o de un clon enumerado en la Tabla 2.

Dominio Fc

[0218] Dentro del dominio Fc, la unión a CD16 está mediada por la región bisagra y el dominio CH2. Por ejemplo, dentro de la IgG1 humana, la interacción con CD16 se centra principalmente en los restos de aminoácidos Asp 265 – Glu 269, Asn 297 – Thr 299, Ala 327 – Ile 332, Leu 234 – Ser 239 y el resto de hidrato de carbono N-acetil-D-glucosamina en el dominio CH2 (véase, Sondermann *et al.*, Nature, 406 (6793):267-273). Por consiguiente, en determinadas realizaciones, el dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una

bisagra y un dominio CH2. Basándose en los dominios conocidos, pueden seleccionarse mutaciones para mejorar o reducir la afinidad de unión a CD16, tal mediante el uso de bibliotecas de presentación en fagos o bibliotecas de ADNc de presentación en la superficie de la levadura, o pueden diseñarse basándose en la estructura tridimensional conocida de la interacción. La unión de CD16 a un dominio Fc puede determinarse mediante métodos habituales, p. ej., mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) o ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA) para la unión *in vitro*, o mediante citometría de flujo para la unión a células que expresan CD16 en sus superficies celulares.

[0219] El ensamblaje de cadenas pesadas de anticuerpos heterodiméricos puede realizarse expresando, en la misma célula, dos secuencias de cadena pesada de anticuerpos diferentes, lo que puede conducir al ensamblaje de homodímeros de cada cadena pesada de anticuerpo, así como al ensamblaje de heterodímeros. La promoción del ensamblaje preferencial de heterodímeros puede realizarse mediante la incorporación de diferentes mutaciones en el dominio CH3 de cada región constante de cadena pesada del anticuerpo, como se muestra en los documentos US13/494870, US16/028850, US11/533709, US12/875015, US13/289934, US14/773418, US12/811207, US13/866756, US14/647480 y US14/830336. Por ejemplo, pueden realizarse mutaciones en el dominio CH3 basadas en la IgG1 humana e incorporando distintos pares de sustituciones de aminoácidos dentro de un primer polipéptido y un segundo polipéptido que permiten que estas dos cadenas se heterodimericen selectivamente entre sí. Todas las posiciones de las sustituciones de aminoácidos que se ilustran a continuación están numeradas según el índice de la UE como en Kabat.

[0220] En un escenario, una sustitución de aminoácido en el primer polipéptido reemplaza el aminoácido original por un aminoácido más grande, seleccionado de arginina (R), fenilalanina (F), tirosina (Y) o triptófano (W), y al menos una sustitución de aminoácido en el segundo polipéptido reemplaza el(los) aminoácido(s) original(es) por uno más aminoácidos más pequeños, elegido de alanina (A), serina (S), treonina (T) o valina (V), de manera que la sustitución del aminoácido más grande (una protuberancia) encaje en la superficie de la(s) sustitución(es) de aminoácido más pequeña(s) (una cavidad). Por ejemplo, un polipéptido puede incorporar una sustitución T366W y el otro puede incorporar tres sustituciones que incluyan T366S, L368A e Y407V.

[0221] Un dominio variable de cadena pesada de anticuerpo de la invención se puede acoplar opcionalmente a una secuencia de aminoácidos al menos 90 % idéntica a una región constante de anticuerpo, tal como una región constante de IgG que incluya una bisagra, los dominios CH2 y CH3 con o sin dominio CH1. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de la región

constante es al menos 90 % idéntica a la región constante de un anticuerpo humano, tal como una región constante de IgG1, una región constante de IgG2, una región constante de IgG3 o una región constante de IgG4 humana. En una realización, el dominio Fc de anticuerpo o una parte del mismo suficiente para unirse a CD16, comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % (p. ej., al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 %) idéntica a la secuencia de Fc de la IgG1 humana natural

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV
LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID
NO:531). En algunas realizaciones diferentes, la secuencia de aminoácidos de la región constante es al menos 90 % idéntica a la región constante de un anticuerpo de otro mamífero, tal como de conejo, perro, gato, ratón o caballo.

[0222] En algunas realizaciones, el dominio constante de anticuerpo ligado al scFv o al fragmento Fab puede unirse a CD16. En algunas realizaciones, la proteína incorpora una parte de un dominio Fc de anticuerpo (por ejemplo, una parte de un dominio Fc de anticuerpo suficiente para unirse a CD16), en donde el dominio Fc de anticuerpo comprende una bisagra y un dominio CH2 (por ejemplo, una bisagra y un dominio CH2 de un anticuerpo de IgG1 humana) y/o secuencias de aminoácidos al menos 90 % idénticas a la secuencia de aminoácidos 234-332 de un anticuerpo de IgG humana.

[0223] Se pueden incorporar una o más mutaciones en la región constante en comparación con la región constante de IgG1 humana, por ejemplo en Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 y/o K439. Como sustituciones ilustrativas se incluyen, por ejemplo, Q347E, Q347R, Y349S, Y349K, Y349T, Y349D, Y349E, Y349C, T350V, L351K, L351D, L351Y, S354C, E356K, E357Q, E357L, E357W, K360E, K360W, Q362E, S364K, S364E, S364H, S364D, T366V, T366I, T366L, T366M, T366K, T366W, T366S, L368E, L368A, L368D, K370S, N390D, N390E, K392L, K392M, K392V, K392F, K392D, K392E, T394F, T394W, D399R, D399K, D399V, S400K, S400R, D401K, F405A, F405T, Y407A, Y407I, Y407V, K409F, K409W, K409D, K409R, T411D, T411E, K439D y K439E.

[0224] En determinadas realizaciones, las mutaciones que se pueden incorporar en el CH1 de una región constante de IgG1 humana pueden estar en el aminoácido V125, F126, P127, T135, T139, A140, F170, P171 y/o V173. En determinadas realizaciones, las mutaciones que se pueden

incorporar en la Ck de una región constante de IgG1 humana pueden estar en el aminoácido E123, F116, S176, V163, S174 y/o T164.

[0225] Como alternativa, las sustituciones de aminoácidos podrían seleccionarse de los siguientes conjuntos de sustituciones que se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5		
	Primer polipéptido	Segundo polipéptido
Conjunto 1	S364E/F405A	Y349K/T394F
Conjunto 2	S364H/D401K	Y349T/T411E
Conjunto 3	S364H/T394F	Y349T/F405A
Conjunto 4	S364E/T394F	Y349K/F405A
Conjunto 5	S364E/T411E	Y349K/D401K
Conjunto 6	S364D/T394F	Y349K/F405A
Conjunto 7	S364H/F405A	Y349T/T394F
Conjunto 8	S364K/E357Q	L368D/K370S
Conjunto 9	L368D/K370S	S364K
Conjunto 10	L368E/K370S	S364K
Conjunto 11	K360E/Q362E	D401K
Conjunto 12	L368D/K370S	S364K/E357L
Conjunto 13	K370S	S364K/E357Q
Conjunto 14	F405L	K409R
Conjunto 15	K409R	F405L

[0226] Como alternativa, las sustituciones de aminoácidos podrían seleccionarse de los siguientes conjuntos de sustituciones que se muestran en la Tabla 6.

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

[0227] Como alternativa, las sustituciones de aminoácidos podrían seleccionarse de los siguientes conjuntos de sustituciones que se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7		
	Primer polipéptido	Segundo polipéptido
Conjunto 1	T366K/L351K	L351D/L368E
Conjunto 2	T366K/L351K	L351D/Y349E
Conjunto 3	T366K/L351K	L351D/Y349D
Conjunto 4	T366K/L351K	L351D/Y349E/L368E
Conjunto 5	T366K/L351K	L351D/Y349D/L368E
Conjunto 6	E356K/D399K	K392D/K409D

[0228] Como alternativa, al menos una sustitución de aminoácido en cada cadena polipeptídica podría seleccionarse de la Tabla 8.

Tabla 8	
Primer polipéptido	Segundo polipéptido
L351Y, D399R, D399K, S400K, S400R, Y407A, Y407I, Y407V	T366V, T366I, T366L, T366M, N390D, N390E, K392L, K392M, K392V, K392F, K392D, K392E, K409F, K409W, T411D y T411E

[0229] Como alternativa, al menos una sustitución de aminoácido podría seleccionarse de los siguientes conjuntos de sustituciones de la Tabla 9, donde la(s) posición(es) indicada(s) en la columna del Primer Polipéptido se reemplaza(n) por cualquier aminoácido conocido cargado negativamente, y la(s) posición(es) indicada(s) en la Columna del Segundo Polipéptido se reemplaza(n) por cualquier aminoácido conocido cargado positivamente.

Tabla 9	
Primer polipéptido	Segundo polipéptido
K392, K370, K409 o K439	D399, E356 o E357

[0230] Como alternativa, al menos una sustitución de aminoácido podría seleccionarse del siguiente conjunto de la Tabla 10, donde la(s) posición(es) indicada(s) en la columna del Primer Polipéptido se reemplaza(n) por cualquier aminoácido conocido cargado positivamente, y la(s)

posición(es) indicada(s) en la Columna del Segundo Polipéptido se reemplaza(n) por cualquier aminoácido conocido cargado negativamente.

Tabla 10	
Primer polipéptido	Segundo polipéptido
D399, E356 o E357	K409, K439, K370 o K392

[0231] Como alternativa, las sustituciones de aminoácidos podrían seleccionarse de los siguientes conjuntos de la Tabla 11.

Tabla 11	
Primer polipéptido	Segundo polipéptido
T350V, L351Y, F405A e Y407V	T350V, T366L, K392L y T394W

[0232] Como alternativa o además, la estabilidad estructural de una proteína heteromultimérica se puede aumentar introduciendo S354C en la primera o la segunda cadena polipeptídica e Y349C en la cadena polipeptídica opuesta, que forma un puente disulfuro artificial dentro de la interfaz de los dos polipéptidos.

[0233] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en la posición T366, y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: T366, L368 y Y407.

[0234] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: T366, L368 e Y407, y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en la posición T366.

[0235] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: E357, K360, Q362, S364, L368, K370, T394, D401, F405 y T411 y en donde la secuencia de aminoácidos de

la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: Y349, E357, S364, L368, K370, T394, D401, F405 y T411.

[0236] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: Y349, E357, S364, L368, K370, T394, D401, F405 y T411 y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: E357, K360, Q362, S364, L368, K370, T394, D401, F405 y T411.

[0237] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: L351, D399, S400 y Y407 y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: T366, N390, K392, K409 y T411.

[0238] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: T366, N390, K392, K409 y T411 y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: L351, D399, S400 y Y407.

[0239] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: Q347, Y349, K360 y K409, y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: Q347, E357, D399 y F405.

[0240] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: Q347, E357,

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

[0241] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: K370, K392, K409 y K439, y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: D356, E357 y D399.

[0242] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: D356, E357 y D399, y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: K370, K392, K409 y K439.

[0243] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: L351, E356, T366 y D399, y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: Y349, L351, L368, K392 y K409.

[0244] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: Y349, L351, L368, K392 y K409, y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: L351, E356, T366 y D399.

[0245] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por una sustitución S354C y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos

de una región constante de IgG1 por una sustitución Y349C.

[0246] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por una sustitución Y349C y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por una sustitución S354C.

[0247] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por las sustituciones K360E y K409W y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por las sustituciones Q347R, D399V y F405T.

[0248] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por las sustituciones Q347R, D399V y F405T y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por las sustituciones K360E y K409W.

[0249] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por una sustitución T366W y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por las sustituciones T366S, T368A e Y407V.

[0250] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por las sustituciones T366S, T368A e Y407 y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por una sustitución T366W.

[0251] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por las sustituciones T350V, L351Y, F405A e Y407V y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por las sustituciones T350V, T366L, K392L y T394W.

[0252] En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por las sustituciones T350V, T366L, K392L y T394W y en donde la secuencia de aminoácidos de la otra cadena polipeptídica de la región constante del anticuerpo difiere de la secuencia de aminoácidos de una región constante de IgG1 por las sustituciones T350V, L351Y, F405A e Y407V.

Ejemplos de proteínas de unión multiespecíficas

[0253] A continuación se enumeran ejemplos de las TriNKET que comprenden un sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5 y un sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D, cada uno de ellos ligado a una región constante de anticuerpo, en donde las regiones constantes de anticuerpo incluyen mutaciones que permiten la heterodimerización de dos cadenas Fc. Las secuencias de CDR según Chothia se indican en negrita y las secuencias de CDR según Kabat se indican subrayadas.

[0254] Las TriNKET se contemplan en el formato F3, es decir, el sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5 es un Fab, y el sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D es un scFv. Todas las TriNKET mostradas anteriormente están en formato F3', es decir, el sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5 es un scFv y el sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D es un Fab. En cada TriNKET, el scFv comprende la sustitución de Cys en las regiones VH y VL, facilitando la formación de un puente disulfuro entre el VH y el VL del scFv.

[0255] El VH y VL del scFv se pueden conectar a través de un enlazador, p. ej., un enlazador peptídico. En determinadas realizaciones, el enlazador peptídico es un enlazador flexible. Respecto a la composición de aminoácidos del enlazador, se seleccionan péptidos con propiedades que confieren flexibilidad, que no interfieren con la estructura y función de los otros dominios de las proteínas de la presente invención y que resisten la escisión por proteasas. Por ejemplo, los restos de glicina y serina generalmente proporcionan resistencia a proteasas. En determinadas realizaciones, el VL está ligado al VH en el extremo N o extremo C a través de un enlazador ((G₄S)₄), (GlyGlyGlyGlySer)₄ (SEQ ID NO:532).

[0256] La longitud del enlazador (p. ej., del enlazador flexible) puede ser "corta", p. ej., de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 restos de aminoácidos, o "larga", p. ej., de al menos 13 restos de aminoácidos. En determinadas realizaciones, el enlazador tiene una longitud de 10-50, 10-40, 10-30, 10-25, 10-20, 15-50, 15-40, 15-30, 15-25, 15-20, 20-50, 20-40, 20-30 o 20-25 restos de aminoácidos.

[0257] En determinadas realizaciones, el enlazador comprende o consiste en una secuencia

(GS)_n (SEQ ID NO:533), (GGS)_n (SEQ ID NO:534), (GGGS)_n (SEQ ID NO:535), (GGSG)_n (SEQ ID NO:536), (GGSGG)_n (SEQ ID NO:537) y (GGGGS)_n (SEQ ID NO:538), en donde n es 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20. En determinadas realizaciones, el enlazador comprende o consiste en una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NO:532, SEQ ID NO:539, SEQ ID NO:540, SEQ ID NO:541, SEQ ID NO:542, SEQ ID NO:543, SEQ ID NO:544, SEQ ID NO:545, SEQ ID NO:546 y SEQ ID NO:547, como se enumera en la Tabla 12.

Tabla 12	
SEQ ID	Secuencia de aminoácidos
SEQ ID NO:539	GSGSGSGSGSGSGSGSGSGS
SEQ ID NO:540	GGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGS
SEQ ID NO:541	GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSG GGSGGGSGGGGS
SEQ ID NO:542	GGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGG GSGGGSGGGSG
SEQ ID NO:543	GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
SEQ ID NO:544	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
SEQ ID NO:532	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
SEQ ID NO:545	GGGGSGGGGSGGGGS
SEQ ID NO:546	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSGGGGS
SEQ ID NO:547	GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSGG

[0258] En las F3'-TriNKET, el scFv que se une a CEACAM5 está unido al extremo N de un Fc a través de un enlazador Gly-Ser. El enlazador Ala-Ser o Gly-Ser se incluye en la secuencia de la región de la bisagra del codo para equilibrar entre flexibilidad y geometría óptima. En determinadas realizaciones, puede añadirse una secuencia adicional Thr-Lys-Gly en el extremo N

o C a la secuencia Ala-Ser o Gly-Ser en la bisagra.

[0259] Como se usa en el presente documento para describir estas TriNKET ilustrativas, una Fc incluye una bisagra de anticuerpo, CH2 y CH3. En cada TriNKET ilustrativa, el dominio Fc ligado a un scFv comprende las mutaciones de Q347R, D399V y F405T, y el dominio Fc ligado a un Fab comprende las mutaciones K360E y K409W complementarias para formar un heterodímero. El dominio Fc ligado al scFv incluye además una sustitución S354C en el dominio CH3, que forma un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en el Fc ligado al Fab. Estas sustituciones se indican en negrita en las secuencias descritas en este subapartado.

[0260] Por ejemplo, una TriNKET de la presente divulgación es F3'-GB1. F3'-GB1 incluye (a) una secuencia de scFv de unión a CEACAM5 procedente de las secuencias de VH y VL en el par análogo A1 de la Tabla 2 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D procedente de A49MI que incluye una parte de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una parte de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB1 incluye tres polipéptidos: GB1-VL-VH-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL.

GB1-VL-VH-Fc (SEQ ID NO:548)

DIRMTQSPSTLSASVIGDRVTITCWAQSISWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESQVPS
RFGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYYCQQYNSYSYTFGCGTKLEIK
GGGGSGGGSGGGSGGGGS
QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKCLEWVSAIFNSGGST
YYADSVKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDLGGYNYGLFDYWGQGT
LTVSS
GS
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
AKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
LVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

A49MI-VH-CH1-Fc (SEQ ID NO:549)

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSSYIYY
ADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGAPIGAAAGWFDPPWGQGT
LTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPSSR
DELTENQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSWLTVDK

SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

A49MI-VL-CL (SEQ ID NO:550)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQGVSEFRTFGGGTKVEIK
RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0261] GB1-VL-VH-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a CEACAM5 ligado a un dominio Fc a través de una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc ligado al scFv incluye las sustituciones Q347R, D399V y F405T para la heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se describe a continuación. El scFv incluye un dominio variable de cadena pesada de GB1 conectado al extremo C de un dominio variable de cadena ligera de GB1 a través de un enlazador (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532). Los dominios variables de cadena pesada y ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro formado a partir de las mutaciones de heterodimerización de cisteína, indicado en **negrita y subrayado** en la secuencia anterior.

[0262] A49MI-VH-CH1-Fc representa la parte de cadena pesada del fragmento Fab, que comprende un dominio variable de cadena pesada (SEQ ID NO:508) de A49MI que se une a NKG2D y un dominio CH1, conectado a un dominio Fc. El dominio Fc en A49MI-VH-CH1-Fc incluye una sustitución Y349C en el dominio CH3, que forma un enlace disulfuro con una sustitución S354C en el Fc en GB1-VL-VH-Fc. En A49MI-VH-CH1-Fc, el dominio Fc también incluye las sustituciones K360E y K409W para la heterodimerización con el Fc en GB1-VL-VH-Fc.

[0263] A49MI-VL-CL representa la parte de cadena ligera del fragmento Fab que comprende un dominio variable de cadena ligera de A49MI que se une a NKG2D (SEQ ID NO:493) y un dominio constante de cadena ligera.

[0264] Otra TriNKET de la presente divulgación es F3'-GB3. F3'-GB3 incluye (a) una secuencia de scFv de unión a CEACAM5 procedente de las secuencias de VH y VL en el par análogo correspondiente de la Tabla 2 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D procedente de A49MI que incluye una parte de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una parte de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB3 incluye tres polipéptidos: GB3-VH-VL-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se

describen anteriormente en el contexto de F3'GB1. El polipéptido de GB3-VH-VL-Fc se expone a continuación.

GB3-VH-VL-Fc (SEQ ID NO:551)

EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKCLEWVSAIFNSGGST
 YYADSVKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDLGGYNYGLFDYWGQGT
 LVTVSS
 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
 DIRMTQSPSTLSASVGDRVTITCWASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPS
 RFGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQYNSYSYTFGCGTKLEIK
 GS
 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
 AKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
 LVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0265] GB3-VH-VL-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a CEACAM5 ligado a un dominio Fc a través de una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc ligado al scFv incluye las sustituciones Q347R, D399V y F405T para la heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se ha descrito anteriormente. El scFv incluye un dominio variable de cadena ligera de GB3 conectado al extremo C de un dominio variable de cadena pesada de GB3 a través de un enlazador (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532). Los dominios variables de cadena pesada y ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro formado a través de mutaciones de heterodimerización de cisteína, indicado en negrita y subrayado en la secuencia anterior.

[0266] Otra TriNKET de la presente divulgación es F3'-GB5. F3'-GB5 incluye (a) una secuencia de scFv de unión a CEACAM5 procedente de las secuencias de VH y VL en el par análogo correspondiente de la Tabla 2 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D procedente de A49MI que incluye una parte de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una parte de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB5 incluye tres polipéptidos: GB5-VH-VL-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'GB1. El polipéptido de GB5-VH-VL-Fc se expone a continuación.

GB5-VH-VL-Fc (SEQ ID NO:552)

QVQLVQSGGGLVQPGGSQRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKCLEWVSAISGTGDST

FYADSVKGRFTFSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGWLQYGLFDYWGGGT
 LTVSS
 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
 DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPD
 RFGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYNNWPLTFGCGTKVEIK
 GS
 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
 AKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
 LVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0267] GB5-VH-VL-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a CEACAM5 ligado a un dominio Fc a través de una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc ligado al scFv incluye las sustituciones Q347R, D399V y F405T para la heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se ha descrito anteriormente. El scFv incluye un dominio variable de cadena ligera de GB5 conectado al extremo C de un dominio variable de cadena pesada de GB5 a través de un enlazador (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532). Los dominios variables de cadena pesada y ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro formado a través de mutaciones de heterodimerización de cisteína, indicado en negrita y subrayado en la secuencia anterior.

[0268] Otra TriNKET de la presente divulgación es F3'-GB7. F3'-GB7 incluye (a) una secuencia de scFv de unión a CEACAM5 procedente de las secuencias de VH y VL en el par análogo correspondiente de la Tabla 2 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D procedente de A49MI que incluye una parte de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una parte de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB7 incluye tres polipéptidos: GB7-VH-VL-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'GB1. El polipéptido de GB7-VH-VL-Fc se expone a continuación.

GB7-VH-VL-Fc (SEQ ID NO:553)

EVQLVQSGGGLVQPGGSQRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKCLEWVSAISGTGDS
 FYADSVKGRFTFSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGWLQYGLFDYWGGGT
 LTVSS
 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
 DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPD
 RFGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYNNWPLTFGCGTKVEIK
 GS
 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD

GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
AKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV
LVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0269] GB7-VH-VH-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a CEACAM5 ligado a un dominio Fc a través de una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc ligado al scFv incluye las sustituciones Q347R, D399V y F405T para la heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se ha descrito anteriormente. El scFv incluye un dominio variable de cadena ligera de GB7 conectado al extremo C de un dominio variable de cadena pesada de GB7 a través de un enlazador (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532). Los dominios variables de cadena pesada y ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro formado a través de mutaciones de heterodimerización de cisteína, indicado en negrita y subrayado en la secuencia anterior.

[0270] Otra TriNKET de la presente divulgación es F3'-GB9. F3'-GB9 incluye (a) una secuencia de scFv de unión a CEACAM5 procedente de las secuencias de VH y VL en el par análogo correspondiente de la Tabla 2 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D procedente de A49MI que incluye una parte de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una parte de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB9 incluye tres polipéptidos: GB9-VL-VH-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'GB1. El polipéptido de GB9-VL-VH-Fc se expone a continuación.

GB9-VL-VH-Fc (SEQ ID NO:554)

DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPD
RFGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYNNWPLTFTGCGTKVEIK
GGGGSGGGSGGGSGGGGS
QVQLVQSGGGLVQPGGSQRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPGKCLEWVSAISGTGDST
FYADSVKGRFTFSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDLGWLQYGLFDYWGQGT
LVTVSS
GS
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
AKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPV
LVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0271] GB9-VL-VH-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a CEACAM5 ligado a un dominio Fc a través de una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc ligado al

scFv incluye las sustituciones Q347R, D399V y F405T para la heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se ha descrito anteriormente. El scFv incluye un dominio variable de cadena ligera de GB9 conectado al extremo N de un dominio variable de cadena pesada de GB9 a través de un enlazador (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532). Los dominios variables de cadena pesada y ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro formado a través de mutaciones de heterodimerización de cisteína, indicado en negrita y subrayado en la secuencia anterior.

[0272] Otra TriNKET de la presente divulgación es F3'-GB11. F3'-GB11 incluye (a) una secuencia de scFv de unión a CEACAM5 procedente de las secuencias de VH y VL en el par análogo correspondiente de la Tabla 2 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D procedente de A49MI que incluye una parte de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una parte de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB11 incluye tres polipéptidos: GB11-VH-VL-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'GB1. El polipéptido de GB11-VH-VL-Fc se expone a continuación.

GB11-VH-VL-Fc (SEQ ID NO:555)

QVQLQESGPGLVPSGTLSTCAVSGGSISSPTWWSWVRQPPGKCLEWIGEIHPSGRTNY
NPSLKSRTVISVDKSKNQFSLKLGSVTAADTAVYYCAREGFYYGSGNYYYFDYWGGQT
LVTVSS
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
DIVMTQTPATLSASVGDRVTITCRASQSVRSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPA
RFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNNWPTFGCGTRLEIK
GS
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
AKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
LVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0273] GB11-VH-VH-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a CEACAM5 ligado a un dominio Fc a través de una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc ligado al scFv incluye las sustituciones Q347R, D399V y F405T para la heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se ha descrito anteriormente. El scFv incluye un dominio variable de cadena ligera de GB11 conectado al extremo C de un dominio variable de cadena pesada de GB11 a través de un enlazador (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532). Los dominios variables de cadena pesada y

ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro formado a través de mutaciones de heterodimerización de cisteína, indicado en negrita y subrayado en la secuencia anterior.

[0274] Otra TriNKET de la presente divulgación es F3'-GB13. F3'-GB13 incluye (a) una secuencia de scFv de unión a CEACAM5 procedente de las secuencias de VH y VL en el par análogo correspondiente de la Tabla 2 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D procedente de A49MI que incluye una parte de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una parte de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB13 incluye tres polipéptidos: GB13-VH-VL-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'GB1. El polipéptido de GB13-VH-VL-Fc se expone a continuación.

GB13-VH-VL-Fc (SEQ ID NO:556)

EVQLQESGPGLVPSGTLSTCAVSGGSISSPTWWSWVRQPPGKCLEWIGEIHPSGRTNY
NPSLKSRVTISVDKSKNQFSLKLGSVTAADTAVYYCAREGFYYGSGNYYYFDYWGQGT
LTVVSS
GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
DIVMTQTPATLSASVGDRVTITCRASQSVRSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPA
RFSGSGSGTEFTLTISLQSEDAVYYCQQYNNWPTFGCGTRLEIK
GS
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
AKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
LVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0275] GB13-VH-VL-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a CEACAM5 ligado a un dominio Fc a través de una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc ligado al scFv incluye las sustituciones Q347R, D399V y F405T para la heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se ha descrito anteriormente. El scFv incluye un dominio variable de cadena ligera de GB13 conectado al extremo C de un dominio variable de cadena pesada de GB13 a través de un enlazador (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532). Los dominios variables de cadena pesada y ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro formado a través de mutaciones de heterodimerización de cisteína, indicado en negrita y subrayado en la secuencia anterior.

[0276] Otra TriNKET de la presente divulgación es F3'-GB15. F3'-GB15 incluye (a) una secuencia de scFv de unión a CEACAM5 procedente de las secuencias de VH y VL en el par

análogo correspondiente de la Tabla 2 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D procedente de A49MI que incluye una parte de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una parte de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB15 incluye tres polipéptidos: GB15-VL-VH-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'GB1. El polipéptido de GB15-VL-VH-Fc se expone a continuación.

GB15-VL-VH-Fc (SEQ ID NO:557)

EVQLQESGPGLVRPSGTLSTCAVSGGSISSPTWWSWVRQPPGKCLEWIGEIHPSGRTNY
 NPSLKSRTVISVDKSKNQFSLKLGSVTAADTAVYYCAREGFYYGSGNYYYFDYWGGQT
 LTVSS
 GGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
 DIVMTQTPATLSASVGDRVTITCRASQSVRSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPA
 RFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNNWPTFGCGTRLEIK
 GS
 DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
 AKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
 LVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0277] GB15-VL-VH-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a CEACAM5 ligado a un dominio Fc a través de una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc ligado al scFv incluye las sustituciones Q347R, D399V y F405T para la heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se ha descrito anteriormente. El scFv incluye un dominio variable de cadena ligera de GB15 conectado al extremo N de un dominio variable de cadena pesada de GB15 a través de un enlazador (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532). Los dominios variables de cadena pesada y ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro formado a través de mutaciones de heterodimerización de cisteína, indicado en negrita y subrayado en la secuencia anterior.

[0278] Otra TriNKET de la presente divulgación es F3'-GB17. F3'-GB17 incluye (a) una secuencia de scFv de unión a CEACAM5 procedente de las secuencias de VH y VL en el par análogo correspondiente de la Tabla 2 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D procedente de A49MI que incluye una parte de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una parte de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB17 incluye tres polipéptidos: GB17-

VH-VL-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'GB1. El polipéptido de GB17-VH-VL-Fc se expone a continuación.

GB17-VH-VL-Fc (SEQ ID NO:558)

QVQLVESGGDVVQPGRLRLSCAASGFILSNYGMHWVRQAPGKCLEWVAAMWYDGS
 NNYYESDVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERVSRHFDWHY YGM
 DVWGQGTTVTVSS
 GGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
 EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLISLGSIRASG
 VPDFSGSGSGTNFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFGCGTKVDIT
 GS
 DKTHTCPPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
 AKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
 LVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0279] GB17-VH-VL-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a CEACAM5 ligado a un dominio Fc a través de una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc ligado al scFv incluye las sustituciones Q347R, D399V y F405T para la heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se ha descrito anteriormente. El scFv incluye un dominio variable de cadena ligera de GB17 conectado al extremo C de un dominio variable de cadena pesada de GB17 a través de un enlazador (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532). Los dominios variables de cadena pesada y ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro formado a través de mutaciones de heterodimerización de cisteína, indicado en negrita y subrayado en la secuencia anterior.

[0280] Otra TriNKET de la presente divulgación es F3'-GB19. F3'-GB19 incluye (a) una secuencia de scFv de unión a CEACAM5 procedente de las secuencias de VH y VL en el par análogo correspondiente de la Tabla 2 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D procedente de A49MI que incluye una parte de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una parte de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB19 incluye tres polipéptidos: GB19-VH-VL-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'GB1. El polipéptido de GB19-VH-VL-Fc se expone a continuación.

GB19-VH-VL-Fc (SEQ ID NO:559)

QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFISNYGMHWVRQAPGKCLEWVAAMWYDGS
 NNYYESDVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERSRHFDWHYYYGM
 DVWGQGTTVTVSS
 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
 EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLISLGSIRASG
 VPDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFGCGTKVDIT
 GS
 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
 AKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
 LVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0281] GB19-VH-VL-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a CEACAM5 ligado a un dominio Fc a través de una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc ligado al scFv incluye las sustituciones Q347R, D399V y F405T para la heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se ha descrito anteriormente. El scFv incluye un dominio variable de cadena ligera de GB19 conectado al extremo C de un dominio variable de cadena pesada de GB19 a través de un enlazador (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532). Los dominios variables de cadena pesada y ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro formado a través de mutaciones de heterodimerización de cisteína, indicado en **negrita** y **subrayado** en la secuencia anterior.

[0282] Otra TriNKET de la presente divulgación es F3'-GB21. F3'-GB21 incluye (a) una secuencia de scFv de unión a CEACAM5 procedente de las secuencias de VH y VL en el par análogo correspondiente de la Tabla 2 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D procedente de A49MI que incluye una parte de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una parte de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB21 incluye tres polipéptidos: GB21-VH-VL-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'GB1. El polipéptido de GB21-VH-VL-Fc se expone a continuación.

GB21-VH-VL-Fc (SEQ ID NO:560)

QVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFISNYGMHWVRQAPGKCLEWVAAMWYDGS
 NNYYESDVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERSRHFDWHYYYGM
 DVWGQGTTVTVSS
 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
 EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLISLGSIRASG
 VPDRFSGSGSGTQFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFGCGTKVDIT
 GS

DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
 AKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
 LVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0283] GB21-VH-VL-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a CEACAM5 ligado a un dominio Fc a través de una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc ligado al scFv incluye las sustituciones Q347R, D399V y F405T para la heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se ha descrito anteriormente. El scFv incluye un dominio variable de cadena ligera de GB21 conectado al extremo C de un dominio variable de cadena pesada de GB21 a través de un enlazador (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532). Los dominios variables de cadena pesada y ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro formado a través de mutaciones de heterodimerización de cisteína, indicado en negrita y subrayado en la secuencia anterior.

[0284] Otra TriNKET de la presente divulgación es F3'-GB23. F3'-GB23 incluye (a) una secuencia de scFv de unión a CEACAM5 procedente de las secuencias de VH y VL en el par análogo correspondiente de la Tabla 2 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D procedente de A49MI que incluye una parte de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una parte de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB23 incluye tres polipéptidos: GB23-VH-VL-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'GB1. El polipéptido de GB23-VH-VL-Fc se expone a continuación.

GB23-VH-VL-Fc (SEQ ID NO:561)

QVQLVESGGDVVQPGRLRLSCAASGFILSNYGMHWVRQAPGKCLEWVAAMWYDGS
 NNYYESVKGRTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERVSRRHFDWHYYYGM
 DVWGQGTTVTVSS
 GGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
 EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHNSGYNLYLDWYLQKPGQSPQLLISLGSIRASG
 VPDRFSGSGGTNFALTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFGCGTKVDIT
 GS
 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
 AKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
 LVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0285] GB23-VH-VL-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a CEACAM5

ligado a un dominio Fc a través de una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc ligado al scFv incluye las sustituciones Q347R, D399V y F405T para la heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se ha descrito anteriormente. El scFv incluye un dominio variable de cadena ligera de GB23 conectado al extremo C de un dominio variable de cadena pesada de GB23 a través de un enlazador (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532). Los dominios variables de cadena pesada y ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro formado a través de mutaciones de heterodimerización de cisteína, indicado en negrita y subrayado en la secuencia anterior.

[0286] Otra TriNKET de la presente divulgación es F3'-GB25. F3'-GB25 incluye (a) una secuencia de scFv de unión a CEACAM5 procedente de las secuencias de VH y VL en el par análogo correspondiente de la Tabla 2 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D procedente de A49MI que incluye una parte de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una parte de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB25 incluye tres polipéptidos: GB25-VH-VL-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'GB1. El polipéptido de GB25-VH-VL-Fc se expone a continuación.

GB25-VH-VL-Fc (SEQ ID NO:562)

EVQLVESGGDVVQPGRLRLSCAASGFILSNYGMHWVRQAPGKCLEWVAAMWYDGS
 NNYYESVSKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERVS RHFDFWHYYYGM
 DVWGQGTTTVTVSS
 GGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
 EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLISLGSIRASG
 VPDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFGCGTKVDIT
 GS
 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
 AKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
 LVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0287] GB25-VH-VL-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a CEACAM5 ligado a un dominio Fc a través de una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc ligado al scFv incluye las sustituciones Q347R, D399V y F405T para la heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se ha descrito anteriormente. El scFv incluye un dominio variable de cadena ligera de GB25 conectado al extremo C de un dominio variable de cadena pesada de GB5 a través de un

enlazador (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532). Los dominios variables de cadena pesada y ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro formado a través de mutaciones de heterodimerización de cisteína, indicado en negrita y subrayado en la secuencia anterior.

[0288] Otra TriNKET de la presente divulgación es F3'-GB27. F3'-GB27 incluye (a) una secuencia de scFv de unión a CEACAM5 procedente de las secuencias de VH y VL en el par análogo correspondiente de la Tabla 2 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D procedente de A49MI que incluye una parte de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una parte de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB27 incluye tres polipéptidos: GB27-VH-VL-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'GB1. El polipéptido de GB27-VH-VL-Fc se expone a continuación.

GB27-VH-VL-Fc (SEQ ID NO:563)

EVQLVESGGDVVQPGRLRLSCAASGFILSNYGMHWVRQAPGKCLEWVAAMWYDGS
 NNYYEDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERVS RHF DWHYYYGM
 DVWGQGTTVTVSS
 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
 EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHSSGYN YLDWYLQKPGQSPQLLISLGSIRASG
 VPDRFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFGCGTKVDIT
 GS
 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
 AKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
 LVSDGSGFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0289] GB27-VH-VL-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a CEACAM5 ligado a un dominio Fc a través de una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc ligado al scFv incluye las sustituciones Q347R, D399V y F405T para la heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se ha descrito anteriormente. El scFv incluye un dominio variable de cadena ligera de GB27 conectado al extremo C de un dominio variable de cadena pesada de GB27 a través de un enlazador (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532). Los dominios variables de cadena pesada y ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro formado a través de mutaciones de heterodimerización de cisteína, indicado en negrita y subrayado en la secuencia anterior.

[0290] Otra TriNKET de la presente divulgación es F3'-GB29. F3'-GB29 incluye (a) una secuencia de scFv de unión a CEACAM5 procedente de las secuencias de VH y VL en el par

análogo correspondiente de la Tabla 2 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D procedente de A49MI que incluye una parte de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una parte de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB29 incluye tres polipéptidos: GB29-VH-VL-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'GB1. El polipéptido de GB29-VH-VL-Fc se expone a continuación.

GB29-VH-VL-Fc (SEQ ID NO:564)

EVQLVESGGDVVQPGRLRLSCAASGFILSNYGMHWVRQAPGKCLEWVAAMWYDGS
 NNYIEDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERVS RHFDWHYYYGM
 DVWGQGTTVTVSS
 GGGSGGGSGGGSGGGGS
 EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSQGYNYLDWYLQKPGQSPQLLISLGSIRASG
 VPDFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFGCGTKVDIT
 GS
 DKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
 AKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
 LVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0291] GB29-VH-VL-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a CEACAM5 ligado a un dominio Fc a través de una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc ligado al scFv incluye las sustituciones Q347R, D399V y F405T para la heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se ha descrito anteriormente. El scFv incluye un dominio variable de cadena ligera de GB29 conectado al extremo C de un dominio variable de cadena pesada de GB29 a través de un enlazador (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532). Los dominios variables de cadena pesada y ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro formado a través de mutaciones de heterodimerización de cisteína, indicado en negrita y subrayado en la secuencia anterior.

[0292] Otra TriNKET de la presente divulgación es F3'-GB31. F3'-GB31 incluye (a) una secuencia de scFv de unión a CEACAM5 procedente de las secuencias de VH y VL en el par análogo correspondiente de la Tabla 2 unida a un dominio Fc y (b) un fragmento Fab de unión a NKG2D procedente de A49MI que incluye una parte de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una parte de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está conectado al dominio Fc. F3'-GB31 incluye tres polipéptidos: GB31-

VH-VL-Fc, A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL. A49MI-VH-CH1-Fc y A49MI-VL-CL se describen anteriormente en el contexto de F3'GB1. El polipéptido de GB31-VH-VL-Fc se expone a continuación.

GB31-VH-VL-Fc (SEQ ID NO:565)

EVQLVESGGDVVQPGRSLRLSCAASGFILSNYGMHWVRQAPGKCLEWVAAMWYDGS
 NNYYESVSKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERVS RHFDFWHY YGM
 DVWGQGTTVTVSS
 GGGSGGGSGGGSGGGSGGGGS
 EIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSNAYNYLDWYLQKPGQSPQLLISLGSIRASG
 VPDFSGSGSGTDFTLTISRVEAEDVGFYYCMQALQTPRTFGCGTKVDIT
 GS
 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
 GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK
 AKGQPREPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPV
 LVSDGSGFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0293] GB31-VH-VL-Fc representa la secuencia completa de un scFv de unión a CEACAM5 ligado a un dominio Fc a través de una bisagra que comprende Gly-Ser. El dominio Fc ligado al scFv incluye las sustituciones Q347R, D399V y F405T para la heterodimerización y una sustitución S354C para formar un enlace disulfuro con una sustitución Y349C en A49MI-VH-CH1-Fc como se ha descrito anteriormente. El scFv incluye un dominio variable de cadena ligera de GB31 conectado al extremo C de un dominio variable de cadena pesada de GB31 a través de un enlazador (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532). Los dominios variables de cadena pesada y ligera del scFv también están conectados a través de un puente disulfuro formado a través de mutaciones de heterodimerización de cisteína, indicado en negrita y subrayado en la secuencia anterior.

[0294] En determinadas realizaciones, una TriNKET de la presente divulgación es idéntica a una de las TriNKET ilustrativas descritas anteriormente que incluye las mutaciones de Fc EW-RVT, excepto que el dominio Fc ligado al fragmento Fab de unión a NKG2D comprende las sustituciones de Q347R, D399V y F405T, y el dominio Fc ligado al scFv de unión a CEACAM5 comprende las sustituciones K360E y K409W complementarias para formar un heterodímero. En determinadas realizaciones, una TriNKET de la presente divulgación es idéntica a una de las TriNKET ilustrativas descritas anteriormente que incluye las mutaciones KiH Fc, excepto que el dominio Fc ligado al fragmento Fab de unión a NKG2D comprende las sustituciones en "ojal" de T366S, L368A e Y407V, y el dominio Fc ligado al scFv de unión a CEACAM5 comprende la sustitución en "botón" de T366W para formar un heterodímero.

[0295] En determinadas realizaciones, una TriNKET de la presente divulgación es idéntica a una de las TriNKET ilustrativas descritas anteriormente, excepto que el dominio Fc ligado al

fragmento Fab de unión a NKG2D incluye una sustitución S354C en el dominio CH3, y el dominio Fc ligado al scFv de unión a CEACAM5 incluye una sustitución Y349C complementaria en el dominio CH3 para formar un enlace disulfuro.

[0296] Un experto en la materia apreciaría que durante la producción y/o el almacenamiento de proteínas, el glutamato (E) o la glutamina (Q) del extremo N, pueden ciclarse para formar una lactama (p. ej., espontáneamente o catalizada por una enzima presente durante la producción y/o el almacenamiento). Por consiguiente, en algunas realizaciones, cuando el resto del extremo N de una secuencia de aminoácidos de un polipéptido es E o Q, en el presente documento también se contempla una secuencia de aminoácidos correspondiente con la E o la Q reemplazada por piroglutamato.

[0297] Un experto en la materia también apreciaría que durante la producción y/o el almacenamiento de proteínas, la lisina (K) del extremo C de una proteína puede eliminarse (p. ej., espontáneamente o catalizada por una enzima presente durante la producción y/o el almacenamiento). Dicha eliminación de K se observa a menudo con proteínas que comprenden un dominio Fc en su extremo C. Por consiguiente, en algunas realizaciones, cuando el resto del extremo C de una secuencia de aminoácidos de un polipéptido (p. ej., una secuencia de dominio Fc) es K, en el presente documento también se contempla una secuencia de aminoácidos correspondiente con la K eliminada.

[0298] Las proteínas multiespecíficas descritas anteriormente pueden prepararse utilizando tecnología de ADN recombinante bien conocida por un experto en la materia. Por ejemplo, una primera secuencia de ácido nucleico que codifica la primera cadena pesada de inmunoglobulina puede clonarse en un primer vector de expresión; una segunda secuencia de ácido nucleico que codifica la segunda cadena pesada de inmunoglobulina puede clonarse en un segundo vector de expresión; una tercera secuencia de ácido nucleico que codifica la cadena ligera de inmunoglobulina puede clonarse en un tercer vector de expresión; y el primer, segundo y tercer vector de expresión pueden transfectarse juntos de forma estable en células hospedadoras para producir las proteínas multiméricas.

[0299] Para lograr el mayor rendimiento de la proteína multiespecífica, pueden explorarse diferentes proporciones del primer, segundo y tercer vector de expresión para determinar la relación óptima para la transfección en las células hospedadoras. Después de la transfección, pueden aislarse clones individuales para la generación de bancos de células utilizando métodos conocidos en la materia, tales como dilución limitada, ELISA, FACS, microscopía o Clonepix.

[0300] Los clones pueden cultivarse en condiciones adecuadas para el aumento de escala del biorreactor y mantener la expresión de la proteína multiespecífica. Las proteínas

multiespecíficas pueden aislarse y purificarse utilizando métodos conocidos en la materia, que incluyen centrifugación, filtración en profundidad, lisis celular, homogeneización, congelación-descongelación, purificación por afinidad, filtración en gel, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de intercambio de interacción hidrófoba y cromatografía de modo mixto.

II. CARACTERÍSTICAS DE LAS PROTEÍNAS MULTIESPECÍFICAS

[0301] Las proteínas multiespecíficas descritas en el presente documento incluyen un sitio de unión a NKG2D, un sitio de unión a CEACAM5 y un dominio Fc de anticuerpo o una parte del mismo suficiente para unirse a CD16, o un sitio de unión a antígeno que se une a CD16. En algunas realizaciones, las proteínas multiespecíficas contienen un sitio de unión a antígeno adicional que se une a CEACAM5, como se ilustra en el formato F4-TriNKET.

[0302] En algunas realizaciones, las proteínas multiespecíficas muestran una estabilidad térmica similar a la del anticuerpo monoclonal correspondiente, es decir, un anticuerpo monoclonal que contiene el mismo sitio de unión a CEACAM5 que el incorporado en las proteínas multiespecíficas.

[0303] En algunas realizaciones, las proteínas multiespecíficas se unen simultáneamente a células que expresan NKG2D y/o CD16, tal como células NK y a células que expresan CEACAM5, tal como determinadas células tumorales. La unión de las proteínas multiespecíficas a células NK puede potenciar la actividad de las células NK hacia la destrucción de las células tumorales que expresan CEACAM5.

[0304] En algunas realizaciones, las proteínas multiespecíficas se unen a CEACAM5 con una afinidad similar a la del anticuerpo monoclonal anti-CEACAM5 correspondiente (es decir, un anticuerpo monoclonal que contiene el mismo sitio de unión a CEACAM5 que el incorporado en las proteínas multiespecíficas). En algunas realizaciones, las proteínas multiespecíficas son más eficaces para destruir las células tumorales que expresan CEACAM5 que los anticuerpos monoclonales correspondientes.

[0305] En determinadas realizaciones, las proteínas multiespecíficas descritas en el presente documento, que incluyen un sitio de unión para CEACAM5, activan a células NK humanas primarias cuando se cultivan conjuntamente con células que expresan CEACAM5. La activación de las células NK está marcada por el aumento de la desgranulación de CD107a y la producción de citocinas de IFN- γ . Además, en comparación con un anticuerpo monoclonal anti-CEACAM5 correspondiente, las proteínas multiespecíficas pueden mostrar una activación superior de las células NK humanas en presencia de células que expresan CEACAM5.

[0306] En algunas realizaciones, las proteínas multiespecíficas descritas en el presente

documento, que incluyen un sitio de unión para CEACAM5, mejoran la actividad de las células NK humanas en reposo y activadas por IL-2 cuando se cultivan conjuntamente con células que expresan CEACAM5.

[0307] En algunas realizaciones, en comparación con el anticuerpo monoclonal correspondiente que se une a CEACAM5, las proteínas multiespecíficas ofrecen una ventaja al dirigirse a células tumorales que expresan niveles medios y bajos de CEACAM5.

[0308] En algunas realizaciones, el formato F4 bivalente de las TriNKET (es decir, las TriNKET que incluyen un sitio de unión a antígeno adicional que se une a CEACAM5) mejora la avidéz con la que las TriNKET se unen a CEACAM5, que en efecto estabiliza la expresión y el mantenimiento de altos niveles de CEACAM5 en la superficie de las células tumorales. En algunas realizaciones, las F4-TriNKET actúan como mediadoras en una destrucción más fuerte de las células tumorales que las F3-TriNKET o F3'-TriNKET correspondientes.

III. APLICACIONES TERAPÉUTICAS

[0309] La invención proporciona métodos para tratar enfermedades autoinmunitarias o cáncer utilizando una proteína de unión multiespecífica descrita en el presente documento y/o una composición farmacéutica descrita en el presente documento. Los métodos pueden utilizarse para tratar una variedad de cánceres que expresan CEACAM5.

[0310] El método terapéutico puede caracterizarse según el cáncer que se vaya a tratar. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en: cáncer gastrointestinal, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón no microcítico y cáncer de esófago.

[0311] En determinadas realizaciones, el cáncer es un tumor sólido. En otras realizaciones determinadas, el cáncer es cáncer de cerebro, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de cuello uterino, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de endometrio, cáncer de esófago, leucemia, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, melanoma, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer rectal, cáncer renal, cáncer de estómago, cáncer testicular o cáncer uterino. En otras realizaciones más, el cáncer es un tumor vascularizado, carcinoma epidermoide, adenocarcinoma, carcinoma microcítico, melanoma, glioma, neuroblastoma, sarcoma (p. ej., angiosarcoma o condrosarcoma), cáncer de laringe, cáncer de la glándula parótida, cáncer de las vías biliares, cáncer de tiroides, melanoma lentiginoso acral, queratosis actínica, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielógena aguda, carcinoma adenoide quístico, adenomas, adenosarcoma, carcinoma adenoescamoso, cáncer del conducto anal, cáncer de ano, cáncer de ano y recto, tumor astrocítico, carcinoma de la glándula de Bartolino, carcinoma basocelular,

cáncer biliar, cáncer de hueso, cáncer de médula ósea, cáncer de bronquios, carcinoma mucoepidermoide bronquial, carcinoide, colangiocarcinoma, condosarcoma, papiloma/carcinoma de plexo coroideo, leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide crónica, carcinoma de células claras, cáncer de tejido conjuntivo, cistoadenoma, cáncer del sistema digestivo, cáncer de duodeno, cáncer del sistema endocrino, tumor del seno endodérmico, hiperplasia endometrial, sarcoma del estroma endometrial, adenocarcinoma endometrioide, cáncer de células endoteliales, cáncer células ependimales, cáncer de células epiteliales, sarcoma de Ewing, cáncer de ojo y orbita, cáncer genital femenino, hiperplasia nodular focal, cáncer de vesícula biliar, cáncer de antro gástrico, cáncer de fondo gástrico, gastrinoma, glioblastoma, glucagonoma, cáncer de corazón, hemangioblastomas, hemangioendotelioma, hemangiomas, adenoma hepático, adenomatosis hepática, cáncer hepatobiliar, carcinoma hepatocelular, enfermedad de Hodgkin, cáncer de íleon, insulinooma, neoplasia intaepitelial, neoplasia epidermoide intraepitelial, cáncer del conducto biliar intrahepático, carcinoma epidermoide invasivo, cáncer de yeyuno, cáncer de articulaciones, sarcoma de Kaposi, cáncer pélvico, carcinoma macrocítico, cáncer de intestino grueso, leiomiosarcoma, melanoma lentigo maligno, linfoma, cáncer genital masculino, melanoma maligno, tumores mesoteliales malignos, meduloblastoma, meduloepitelioma, cáncer meníngeo, cáncer mesotelial, carcinoma metastásico, cáncer de boca, carcinoma mucoepidermoide, mieloma múltiple, cáncer muscular, cáncer del conducto nasal, cáncer del sistema nervioso, adenocarcinoma neuroepitelial, melanoma nodular, cáncer de piel no epitelial, linfoma no hodgkiniano, carcinoma de células en grano de avena, cáncer oligodendrogial, cáncer de la cavidad bucal, osteosarcoma, adenocarcinoma seroso papilar, cáncer de pene, cáncer de faringe, tumores hipofisarios, plasmacitoma, pseudosarcoma, blastoma pulmonar, cáncer rectal, carcinoma de células renales, cáncer del sistema respiratorio, retinoblastoma, rabdomiosarcoma, sarcoma, carcinoma seroso, cáncer sinusal, cáncer de piel, carcinoma microcítico, cáncer de intestino delgado, cáncer de músculo liso, cáncer de tejidos blandos, tumor secretor de somatostatina, cáncer de columna, carcinoma epidermoide, cáncer de músculo estriado, cáncer submesotelial, melanoma de diseminación superficial, leucemia de linfocitos T, cáncer de lengua, carcinoma indiferenciado, cáncer de uréter, cáncer de uretra, cáncer de vejiga urinaria, cáncer del sistema urinario, cáncer de cuello uterino, cáncer del cuerpo uterino, melanoma uveal, cáncer de vagina, carcinoma verrugoso, VIPpoma, cáncer de vulva, carcinoma bien diferenciado o tumor de Wilms.

[0312] El cáncer a tratar puede caracterizarse según la presencia de un antígeno particular expresado en la superficie de la célula cancerosa. Los cánceres caracterizados por la expresión de CEACAM5 incluyen, sin limitación, cáncer de tiroides medular (CTM), cáncer de tiroides no

medular (CTNM), cáncer gástrico, cánceres colorrectales, carcinoma hepatocelular, cáncer de pulmón, cáncer de páncreas, cáncer de mama y cáncer de ovario. En determinadas realizaciones, la célula cancerosa puede expresar una o más de las siguientes: CEACAM1, CEACAM3, CEACAM6 y CEACAM8. En determinadas realizaciones, además de CEACAM5 la célula cancerosa puede expresar uno o más de los siguientes: CD2, CD19, CD20, CD30, CD38, CD40, CD52, CD70, EGFR/ERBB1, IGF1R, HER3/ERBB3, HER4/ERBB4, MUC1, TROP2, cMET, SLAMF7, PSCA, MICA, MICB, TRAILR1, TRAILR2, MAGE-A3, B7.1, B7.2, CTLA4 y PD1.

[0313] Se contempla que la proteína, el conjugado, las células y/o las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación, puedan utilizarse para tratar una variedad de cánceres, no limitado a cánceres en los que las células cancerosas expresan CEACAM5. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, la proteína, el conjugado, las células y/o las composiciones farmacéuticas desveladas en el presente documento, pueden utilizarse para tratar cánceres que están asociados a células que expresan CEACAM5. CEACAM5 se sobreexpresa en un alto porcentaje de cánceres humanos. Por lo tanto, los métodos desvelados en el presente documento pueden utilizarse para tratar una variedad de cánceres en los que se expresa CEACAM5.

IV. COMBITERAPIA

[0314] Otro aspecto de la invención proporciona una combiterapia. Una proteína de unión multiespecífica descrita en el presente documento puede utilizarse en junto con agentes terapéuticos adicionales para tratar enfermedades autoinmunitarias o para tratar cáncer.

[0315] En Li *et al.* (2017) *Front. Pharmacol.*, 8:460 se describen agentes terapéuticos ilustrativos que pueden utilizarse como parte de una combiterapia en el tratamiento de enfermedades inflamatorias autoinmunitarias, e incluyen, por ejemplo, fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) (p. ej., inhibidores de COX-2), glucocorticoides (p. ej., prednisona/prednisolona, metilprednisolona y los glucocorticoides fluorados tales como dexametasona y betametasona), fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FAME) (p. ej., metotrexato, leflunomida, compuestos de oro, sulfasalazina, azatioprina, ciclofosfamida, antipalúdicos, D-penicilamina y ciclosporina), productos biológicos anti-TNF (p. ej., infliximab, etanercept, adalimumab, golimumab, certolizumab pegol y sus biosimilares), y otros productos biológicos dirigidos a CTLA-4 (p. ej., abatacept), receptor de IL-6 (p. ej., tocilizumab), IL-1 (p. ej., anakinra), respuestas inmunitarias Th1 (IL-12/IL-23) (p. ej., ustekinumab), respuestas inmunitarias Th17 (IL-17) (p. ej., secukinumab) y CD20 (p. ej., rituximab).

[0316] Como ejemplos de agentes terapéuticos que pueden utilizarse como parte de una

combiterapia en el tratamiento del cáncer se incluyen, por ejemplo, radiación, mitomicina, tretinoína, ribomustina, gemcitabina, vincristina, etopósido, cladribina, mitobronitol, metotrexato, doxorubicina, carbocina, pentostatina, nitracrina, zinostatina, cetorelix, letrozol, raltitrexed, daunorrubicina, fadrozol, fotemustina, timalfasina, sobuzoxano, nedaplatino, citarabina, bicalutamida, vinorelbina, vesnarinona, aminoglutetimida, amsacrina, proglumida, acetato de eliptinio, ketanserina, doxifluridina, etretinato, isotretinoína, estreptozocina, nimustina, vindesina, flutamida, drogenil, butocina, carmofur, razoxano, sizofilan, carboplatino, mitolactol, tegafur, ifosfamida, prednimustina, picibanilo, levamisol, tenipósido, improsulfán, enocitabina, lisurida, oximetolona, tamoxifeno, progesterona, mepitiostano, epitioestanol, formestano, interferón alfa, interferón alfa-2, interferón beta, interferón gamma (IFN- γ), factor 1 estimulante de colonias, factor 2 estimulante de colonias, denileucina difitox, interleucina-2, factor liberador de la hormona luteinizante y variaciones de los agentes mencionados anteriormente que pueden mostrar unión diferencial con su receptor análogo, o un aumento o disminución de la semivida en suero.

[0317] Una clase adicional de agentes que pueden utilizarse como parte de una combiterapia en el tratamiento del cáncer son los inhibidores de punto de control inmunitario. Como ejemplos de inhibidores de punto de control inmunitario se incluyen agentes que inhiben uno o más de (i) antígeno 4 asociado a linfocitos T citotóxicos (CTLA4), (ii) proteína 1 de muerte celular programada (PD1), (iii) PDL1, (iv) LAG3, (v) B7-H3, (vi) B7-H4 y (vii) TIM3. El inhibidor de CTLA4 ipilimumab ha sido aprobado por la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos para el tratamiento del melanoma. En realizaciones específicas, el inhibidor puede ser un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno, una inmunoadhesina, una proteína de fusión o un oligopéptido. En algunas realizaciones, el inhibidor de punto de control es un inhibidor de PD1 seleccionado del grupo que consiste en un anticuerpo anti-PD1 o un anticuerpo anti-PDL1. En algunas realizaciones, el inhibidor de PD1 se elige de nivolumab (OPDIVO, Bristol Myers Squibb, Nueva York, Nueva York), pembrolizumab (KEYTRUDA, Merck Sharp & Dohme Corp, Kenilworth, NJ, EE.UU.), cetiplimab (Regeneron, Tarrytown, NY) o pidilizumab (CT-011). En algunas realizaciones, el inhibidor de PD1 es una inmunoadhesina (p. ej., una inmunoadhesina que comprende una parte extracelular o de unión a PD1 de PD-L1 o PDL2 fusionada a una región constante (p. ej., una región Fc de una secuencia de inmunoglobulina). En algunas realizaciones, el inhibidor de PD1 es AMP-224. En algunas realizaciones, el inhibidor de PDL1 es un anticuerpo antiPDL1 tal como durvalumab (IMFINZI, Astrazeneca, Wilmington, DE), atezolizumab (TECENTRIQ, Roche, Zurich, CH) o avelumab (BAVENCIO, EMD Serono, Billerica, MA). En algunas realizaciones, el inhibidor de PDL1 se

elige de YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C o MDX-1105.

[0318] Sin embargo, otros agentes que pueden utilizarse como parte de una combiterapia en el tratamiento del cáncer son agentes de anticuerpos monoclonales que se dirigen a dianas que no son puntos de control (p. ej., herceptin (nombre genérico: trastuzumab)) y agentes no citotóxicos (p. ej., inhibidores de tirosina cinasa).

[0319] Sin embargo, otras categorías de agentes contra el cáncer incluyen, por ejemplo: (i) un inhibidor seleccionado del grupo que consiste en: un inhibidor de ALK, un inhibidor de ATR, un antagonista de A2A, un inhibidor de la reparación de escisión de bases, inhibidores de tirosina cinasa Bcr-Abl, inhibidores de tirosina cinasa de Bruton, un inhibidor de CDC7, un inhibidor de CHK1, un inhibidor de cinasa dependiente de ciclina, un inhibidor de DNA-PK (por las siglas del inglés *DNA-Dependent Protein Kinase*, proteína cinasa dependiente de ADN), un inhibidor de DNA-PK y mTOR, un inhibidor de DNMT1, un inhibidor de DNMT1 más 2-cloro-desoxiadenosina, un inhibidor de HDAC, un inhibidor de la vía de señalización Hedgehog, un inhibidor de IDO, un inhibidor de JAK, un inhibidor de mTOR, un inhibidor de MEK, un inhibidor de MELK, un inhibidor de MTH1, un inhibidor de PARP, un inhibidor de la fosfoinosítido 3-cinasa, un inhibidor de PARP1 y DHODH, un inhibidor del proteasoma, un inhibidor de la topoisomerasa II, un inhibidor de tirosina cinasa, un inhibidor de VEGFR y un inhibidor de WEE1; (ii) un agonista de OX40, CD137, CD40, GITR, CD27, HVEM, TNFRSF25 o ICOS; y (iii) una citocina seleccionada del grupo que consiste en: IL-12, IL-15, GM-CSF y G-CSF.

[0320] Las proteínas de la invención también pueden utilizarse como complemento de la extirpación quirúrgica de la lesión primaria.

[0321] La cantidad de proteína de unión multiespecífica y agente terapéutico adicional y el tiempo relativo de administración pueden seleccionarse para lograr un efecto terapéutico combinado deseado. Por ejemplo, cuando se administra una combiterapia a un paciente que necesita dicha administración, los agentes terapéuticos en la combinación, o una composición o composiciones farmacéuticas que comprenden los agentes terapéuticos, pueden administrarse en cualquier orden tal como, por ejemplo, de manera secuencial, al mismo tiempo, juntos, de manera simultánea y similares. Además, por ejemplo, una proteína de unión multiespecífica puede administrarse durante un tiempo en donde el/los agente(s) terapéutico(s) adicional(es) ejerce(n) su efecto profiláctico o terapéutico, o viceversa.

V. COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

[0322] La presente divulgación también presenta composiciones farmacéuticas que contienen

una cantidad terapéuticamente eficaz de una proteína descrita en el presente documento. La composición puede formularse para su uso en una variedad de sistemas de suministro de fármacos. Para una formulación adecuada, en la composición también pueden incluirse uno o más excipientes o vehículos fisiológicamente aceptables. Formulaciones adecuadas para su uso en la presente divulgación se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Filadelfia, Pa., 17ª ed., 1985. Para una breve revisión de los métodos de suministro de fármacos, véase, p. ej., Langer (Science 249:1527-1533, 1990).

[0323] La formulación de suministro intravenoso de fármacos de la presente divulgación puede estar contenida en una bolsa, una pluma o una jeringa. En determinadas realizaciones, la bolsa puede estar conectada a un canal que comprende un tubo y/o una aguja. En determinadas realizaciones, la formulación puede ser una formulación liofilizada o una formulación líquida. En determinadas realizaciones, la formulación puede criodesecarse (liofilizarse). En determinadas realizaciones, la formulación puede ser una formulación líquida.

[0324] La proteína podría existir en una formulación farmacéutica acuosa líquida que incluya una cantidad terapéuticamente eficaz de la proteína en una solución tamponada que forma una formulación.

[0325] Estas composiciones pueden esterilizarse mediante técnicas de esterilización convencionales o pueden esterilizarse por filtración. Las soluciones acuosas resultantes pueden envasarse para su uso tal cual, o liofilizarse, combinándose la preparación liofilizada con un vehículo acuoso estéril antes de la administración. El pH de las preparaciones estará normalmente entre 3 y 11, más preferentemente entre 5 y 9 o entre 6 y 8, y lo más preferentemente entre 7 y 8, tal como de 7 a 7,5. Las composiciones resultantes en forma sólida pueden envasarse en múltiples unidades monodosis, conteniendo cada una de ellas una cantidad fija del agente o agentes mencionado(s) anteriormente. La composición en forma sólida también puede envasarse en un recipiente para una cantidad flexible.

[0326] En determinadas realizaciones, la presente divulgación proporciona una formulación con una vida útil prolongada que incluye la proteína de la presente divulgación, junto con manitol, monohidrato de ácido cítrico, citrato sódico, fosfato disódico dihidrato, dihidrogenofosfato de sodio dihidratado, cloruro de sodio, polisorbato 80, agua e hidróxido de sodio.

[0327] En determinadas realizaciones, se prepara una formulación acuosa que incluye la proteína de la presente divulgación en una solución de pH tamponado. El tampón de esta invención puede tener un pH que varíe de aproximadamente 4 a aproximadamente 8, p. ej., de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 6,0, o de aproximadamente 4,8 a aproximadamente

5,5, o puede tener un pH de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 5,2. También se pretende que los intervalos intermedios de los valores de pH citados anteriormente formen parte de esta divulgación. Por ejemplo, se pretende incluir intervalos de valores que utilizan una combinación de cualquiera de los valores citados anteriormente como límites superior y/o inferior. Los ejemplos de tampones que controlarán el pH dentro de este intervalo incluyen acetato (p. ej., acetato de sodio), succinato (tal como succinato de sodio), gluconato, histidina, citrato y otros tampones ácidos orgánicos.

[0328] En determinadas realizaciones, la formulación incluye un sistema tampón que contiene citrato y fosfato para mantener el pH en un intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 8. En determinadas realizaciones, el intervalo de pH puede ser de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 6,0, o de aproximadamente pH 4,8 a aproximadamente 5,5, o un intervalo de pH de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 5,2. En determinadas realizaciones, el sistema tampón incluye monohidrato de ácido cítrico, citrato sódico, fosfato disódico dihidratado y/o dihidrógeno fosfato sódico dihidratado. En determinadas realizaciones, el pH de la formulación se ajusta con hidróxido de sodio.

[0329] También puede incluirse en la formulación un poliol, que actúa como tonificante y puede estabilizar el anticuerpo. El poliol se añade a la formulación en una cantidad que puede variar con respecto a la isotonicidad deseada de la formulación. En determinadas realizaciones, la formulación acuosa puede ser isotónica. La cantidad de poliol añadida también puede alterarse con respecto al peso molecular del poliol. Por ejemplo, puede añadirse una menor cantidad de un monosacárido (p. ej., manitol), en comparación con un disacárido (tal como trehalosa). En determinadas realizaciones, el poliol que puede utilizarse en la formulación como agente de tonicidad es manitol.

[0330] También puede añadirse un detergente o un tensioactivo a la formulación. Como ejemplos de detergentes se incluyen detergentes no iónicos tales como polisorbatos (p. ej., polisorbatos 20, 80, etc.) o poloxámeros (p. ej., poloxámero 188). La cantidad de detergente añadida es tal que reduce la agregación del anticuerpo formulado y/o minimiza la formación de partículas en la formulación y/o reduce la adsorción. En determinadas realizaciones, la formulación puede incluir un tensioactivo que es un polisorbato. En determinadas realizaciones, la formulación puede contener el detergente polisorbato 80 o Tween 80. Tween 80 es un término utilizado para describir el monooleato de polioxietileno de sorbitán (20) (véase Fiedler, Lexikon der Hfisstoffe, Editio Cantor Verlag Aulendorf, 4ª ed., 1996).

[0331] En las realizaciones, el producto proteico de la presente divulgación se formula como una formulación líquida. La formulación líquida puede presentarse en un vial 50R tipo I que

cumpla con la USP y Ph Eur (farmacopea de Estados Unidos y la Europea) cerrado con un tapón de goma y sellado con un cierre de engarce de aluminio. El tapón puede fabricarse con un elastómero que cumpla con la USP y Ph Eur. En ciertas realizaciones, los viales pueden llenarse con la solución de producto proteico para permitir un volumen extraíble. En determinadas realizaciones, la formulación líquida puede diluirse con solución salina.

[0332] En determinadas realizaciones, la formulación líquida de la divulgación puede prepararse junto con un azúcar a niveles estabilizadores. En determinadas realizaciones, la formulación líquida puede prepararse en un vehículo acuoso. En determinadas realizaciones, puede añadirse un estabilizador en una cantidad no superior a la que puede dar como resultado una viscosidad no conveniente o inadecuada para la administración intravenosa. En determinadas realizaciones, el azúcar puede ser disacáridos, p. ej., sacarosa. En determinadas realizaciones, la formulación líquida también puede incluir uno o más de un agente tamponador, un tensioactivo y un conservante.

[0333] En determinadas realizaciones, el pH de la formulación líquida puede establecerse mediante la adición de un ácido y/o una base farmacéuticamente aceptable. En determinadas realizaciones, el ácido farmacéuticamente aceptable puede ser ácido clorhídrico. En determinadas realizaciones, la base puede ser hidróxido de sodio.

[0334] Además de la agregación, la desamidación es una variante de producto común de péptidos y proteínas que puede producirse durante la fermentación, recogida/clarificación celular, purificación, almacenamiento de la sustancia farmacéutica/medicamento y durante el análisis de las muestras. La desamidación es la pérdida de NH_3 de una proteína que forma un intermedio de succinimida que puede experimentar hidrólisis. El intermedio de succinimida da como resultado una disminución de la masa del péptido original de 17 dalton. La hidrólisis posterior da como resultado un aumento de masa de 18 dalton. El aislamiento del intermedio de succinimida es difícil debido a la inestabilidad en condiciones acuosas. Como tal, la desamidación puede detectarse normalmente como un aumento de masa de 1 dalton. La desamidación de una asparagina da como resultado ácido aspártico o isoaspártico. Los parámetros que influyen en la tasa de desamidación incluyen pH, temperatura, constante dieléctrica del disolvente, fuerza iónica, secuencia primaria, conformación local del polipéptido y estructura terciaria. Los restos de aminoácidos adyacentes a Asn en la cadena peptídica afectan a las tasas de desamidación. Gly y Ser después de un Asn en las secuencias de proteínas dan como resultado una mayor susceptibilidad a la desamidación.

[0335] En determinadas realizaciones, la formulación líquida de la presente divulgación puede conservarse en condiciones de pH y humedad para impedir la desaminación del producto

proteico.

[0336] En el presente documento, el vehículo acuoso de interés es uno que es farmacéuticamente aceptable (seguro y no tóxico para la administración a un ser humano) y que es útil para la preparación de una formulación líquida. Como vehículos ilustrativos se incluyen agua estéril para inyección (SWFI, por sus siglas en inglés), agua bacteriostática para inyección (BWFI), una solución tamponadora de pH (p. ej., solución salina tamponada con fosfato), solución salina estéril, solución de Ringer o solución de dextrosa.

[0337] A las formulaciones del presente documento puede añadirse opcionalmente un conservante para reducir la acción bacteriana. La adición de un conservante puede, por ejemplo, facilitar la producción de una formulación de usos múltiples (dosis múltiples).

[0338] Las formulaciones intravenosas (IV) pueden ser la vía de administración preferida en casos particulares, tal como cuando un paciente está en el hospital después de un trasplante y recibe todos los fármacos por vía intravenosa. En determinadas realizaciones, la formulación líquida se diluye con una solución de cloruro de sodio al 0,9 % antes de la administración. En determinadas realizaciones, el medicamento diluido para inyección es isotónico y adecuado para la administración por infusión intravenosa.

[0339] En determinadas realizaciones, puede añadirse una sal o componentes tampón en una cantidad de 10 mM - 200 mM. Las sales y/o tampones son farmacéuticamente aceptables y proceden de varios ácidos (inorgánicos y orgánicos) conocidos con metales o aminas que "forman bases". En determinadas realizaciones, el tampón puede ser tampón fosfato. En determinadas realizaciones, el tampón puede ser un tampón de glicinato, carbonato, citrato, en cuyo caso, los iones de sodio, potasio o amonio pueden servir como contraiones.

[0340] A las formulaciones del presente documento puede añadirse opcionalmente un conservante para reducir la acción bacteriana. La adición de un conservante puede, por ejemplo, facilitar la producción de una formulación de usos múltiples (dosis múltiples).

[0341] En el presente documento, el vehículo acuoso de interés es uno que es farmacéuticamente aceptable (seguro y no tóxico para la administración a un ser humano) y que es útil para la preparación de una formulación líquida. Como vehículos ilustrativos se incluyen agua estéril para inyección (SWFI), agua bacteriostática para inyección (BWFI), una solución tamponadora de pH (p. ej., solución salina tamponada con fosfato), solución salina estéril, solución de Ringer o solución de dextrosa.

[0342] La proteína de la presente divulgación podría existir en una formulación liofilizada que incluya las proteínas y un lioprotector. El lioprotector puede ser azúcar, p. ej., disacáridos. En determinadas realizaciones, el lioprotector puede ser sacarosa o maltosa. La formulación

liofilizada también puede incluir uno o más de un agente tamponador, un tensioactivo, un agente de carga y/o un conservante.

[0343] La cantidad de sacarosa o maltosa útil para la estabilización del medicamento liofilizado puede estar en una proporción en peso de al menos 1:2 de proteína a sacarosa o maltosa. En determinadas realizaciones, la relación en peso de proteína a sacarosa o maltosa puede ser de 1:2 a 1:5.

[0344] En determinadas realizaciones, el pH de la formulación, antes de la liofilización, puede establecerse mediante la adición de un ácido y/o una base farmacéuticamente aceptable. En determinadas realizaciones, el ácido farmacéuticamente aceptable puede ser ácido clorhídrico. En determinadas realizaciones, la base farmacéuticamente aceptable puede ser hidróxido de sodio.

[0345] Antes de la liofilización, el pH de la solución que contiene la proteína de la presente divulgación se puede ajustar entre 6 y 8. En determinadas realizaciones, el intervalo de pH para el medicamento liofilizado puede ser de 7 a 8.

[0346] En determinadas realizaciones, puede añadirse una sal o componentes tampón en una cantidad de 10 mM - 200 mM. Las sales y/o tampones son farmacéuticamente aceptables y proceden de varios ácidos (inorgánicos y orgánicos) conocidos con metales o aminas que "forman bases". En determinadas realizaciones, el tampón puede ser tampón fosfato. En determinadas realizaciones, el tampón puede ser un tampón de glicinato, carbonato, citrato, en cuyo caso, los iones de sodio, potasio o amonio pueden servir como contraiones.

[0347] En determinadas realizaciones, se puede añadir un "agente de carga". Un "agente de carga" es un compuesto que añade masa a una mezcla liofilizada y contribuye a la estructura física de la torta liofilizada (p. ej., facilita la producción de una torta liofilizada esencialmente uniforme que conserva una estructura de poros abiertos). Los agentes de carga ilustrativos incluyen manitol, glicina, polietilenglicol y sorbitol. Las formulaciones liofilizadas de la presente invención pueden contener dichos agentes de carga.

[0348] A las formulaciones del presente documento puede añadirse opcionalmente un conservante para reducir la acción bacteriana. La adición de un conservante puede, por ejemplo, facilitar la producción de una formulación de usos múltiples (dosis múltiples).

[0349] En determinadas realizaciones, el medicamento liofilizado puede constituirse con un vehículo acuoso. En el presente documento, el vehículo acuoso de interés es uno que es farmacéuticamente aceptable (p. ej., seguro y no tóxico para la administración a un ser humano) y que es útil para la preparación de una formulación líquida, después de la liofilización. Como diluyentes ilustrativos se incluyen agua estéril para inyección (SWFI), agua bacteriostática para

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

[0350] En determinadas realizaciones, el medicamento liofilizado de la presente divulgación se reconstituye con agua estéril para inyección, USP (SWFI) o inyección de cloruro de sodio al 0,9 %, USP. Durante la reconstitución, el polvo liofilizado se disuelve en una solución.

[0351] En determinadas realizaciones, el producto proteico liofilizado de la presente divulgación se reconstituye con agua para inyección y se diluye con solución salina al 0,9 % (solución de cloruro de sodio).

[0352] Los niveles de dosificación reales de los principios activos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden modificarse para obtener una cantidad del principio activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente, una composición y un modo de administración particulares, sin que sea tóxica para el paciente.

[0353] La dosis específica puede ser una dosis uniforme para cada paciente, por ejemplo, 50-5000 mg de proteína. Como alternativa, la dosis de un paciente puede adaptarse al peso corporal aproximado o a la superficie aproximada del paciente. Otros factores para determinar la dosis adecuada pueden incluir la enfermedad o afección a tratar o prevenir, la gravedad de la enfermedad, la vía de administración y la edad, el sexo y el cuadro clínico del paciente. Los expertos en la materia pueden seguir perfeccionando los cálculos necesarios para determinar la dosis adecuada para el tratamiento, especialmente a la luz de la información con respecto a la dosificación y a los ensayos desvelados en el presente documento. La dosificación también puede determinarse utilizando ensayos conocidos para determinar las dosificaciones utilizadas junto con los datos apropiados de respuesta a la dosis. La dosificación de un paciente individual puede ajustarse a medida que se controla el avance de la enfermedad. Para ver si es necesario ajustar la dosificación para alcanzar o mantener una concentración eficaz, pueden medirse los niveles en sangre de la construcción o complejo direccionable en un paciente. La farmacogenómica puede utilizarse para determinar qué construcciones y/o complejos direccionables, y qué dosis de los mismos, tienen más probabilidades de ser eficaces para un individuo dado (Schmitz *et al.*, *Clinica Chimica Acta* 308: 43-53, 2001; Steimer *et al.*, *Clinica Chimica Acta* 308: 33-41, 2001).

[0354] Las dosis pueden administrarse una o más veces al día, semanal, mensual o anualmente, o incluso una vez cada 2 a 20 años. Los expertos en la materia pueden calcular fácilmente las tasas de repetición de la dosificación en función de los tiempos de residencia medidos y las concentraciones de la construcción o complejo direccionable en los líquidos o tejidos corporales. La administración de la presente invención podría ser intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea, intrapleuraleal, intratecal, intracavitaria, por

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

[0355] La descripción anterior describe múltiples aspectos y realizaciones de la invención. La solicitud de patente contempla específicamente todas las combinaciones y permutaciones de los aspectos y realizaciones.

EJEMPLOS

[0356] La invención, que se está describiendo ahora en líneas generales, se entenderá más completamente por referencia a los siguientes ejemplos, que se incluyen simplemente con fines de ilustración de determinados aspectos y realizaciones de la presente invención, y no pretenden limitar la invención.

Ejemplo 1. Inmunización y Generación de Hibridomas

[0357] Se adquirieron ratones BALB/cJ en The Jackson Laboratory (N.º de reserva: 000651) y se inmunizaron con: líneas celulares isogénicas Ba/F3 que sobreexpresaban CEACAM5 de cyno y/o ser humano; el dominio hCEACAM5-A3B3; CEACAM5 recombinante de cyno y/o ser humano; o la construcción NABA humana (NABA que consiste en los dominios N, A1 y A2 de CEACAM1 de ser humano y el dominio B3 de CEACAM5 de ser humano). Estos ratones se utilizaron para la producción de mAb (anticuerpos monoclonales) murinos. Se adquirieron ratones H2L2TM en Harbor Biomed y se inmunizaron con: líneas celulares isogénicas Ba/F3 que sobreexpresaban CEACAM5 de cyno y/o ser humano; el dominio hCEACAM5-A3B3; CEACAM5 recombinante de cyno y/o ser humano; o la construcción NABA humana (NABA que consiste en los dominios N, A1 y A2 de CEACAM1 de ser humano y el dominio B3 de CEACAM5 de ser humano). Estos ratones se utilizaron para la producción de mAb quiméricos de ser humano/rata con regiones variables humanas y regiones constantes de rata. Después de esto, esplenocitos de ratones inmunizados se fusionaron con células de mieloma de ratón para generar células de hibridoma.

[0358] Las células de hibridoma fusionadas se cultivaron en medios de cultivo DMEM complementados en aire humidificado a 37 °C con CO₂ al 8 %. Los sobrenadantes de los hibridomas se evaluaron para determinar la unión de CEACAM5, CEACAM1, CEACAM6 y CEACAM8 mediante ensayo de inmunoadsorción enzimática (ELISA) y resonancia de plasmón superficial (SPR) múltiple (Carterra LSA). Los hibridomas específicos de antígeno CEACAM5 se subclonaron posteriormente. Se seleccionaron clones para estudios adicionales basándose en

estimaciones preliminares de afinidad de unión mediante SPR múltiple (Carterra), en la unión a células que expresan CEACAM5 de ser humano y de macaco *cynomolgus*, en la unión a líneas celulares de cáncer CEACAM5⁺ y en la diversidad de epítomos. Se observó reactividad cruzada con CEACAM5 de macaco *cynomolgus* para el clon 16F6.A2-CEACAM5-B.02.

[0359] Los mAb murinos Balb/cJ se purificaron a partir de sobrenadantes de hibridoma mediante cromatografía de proteína A utilizando perlas magnética AmMagTM de proteína A (P/N L00695, Genscript Biotech, Piscataway, NJ). Las perlas se equilibraron con glicina 1,5 M, NaCl 3,0 M, pH 8,5. Los sobrenadantes se diluyeron a 1:1 con glicina 1,5 M, NaCl 3,0 M pH 8,5 y durante 1 h se incubaron con perlas magnéticas ProA con balanceo suave. Las perlas se lavaron con glicina 1,5 M, NaCl 3,0 M pH 8,5 para eliminar las proteínas no unidas. Los anticuerpos se eluyeron con glicina 100 mM pH 3,0 y se neutralizaron inmediatamente a pH 7,5 con Tris 1,0 M, pH 8,3. La concentración de proteína se determinó mediante A280 utilizando un espectrofotómetro Nanodrop. Los mAb humanos (región variable)/rata (región constante) procedentes de H2L2 se purificaron a partir de sobrenadantes de hibridoma mediante cromatografía con proteína G (Global Life Sciences Solutions, Marlborough, MA). La columna de proteína G se equilibró con acetato de sodio 50 mM, pH 5,0 + NaCl 10 mM. Los sobrenadantes se diluyeron 10 veces con acetato de sodio 50 mM, pH 5,0 + NaCl 10 mM y con medio de Proteína G equilibrado con balanceo suave durante 1 h. Las perlas se lavaron con acetato de sodio 50 mM, pH 5,0 + NaCl 10 mM para eliminar las proteínas no unidas. Los anticuerpos se eluyeron con glicina 100 mM pH 2,5 con neutralización inmediata a pH 7,5 con Tris 1,0 M, pH 8,3. Después de la purificación, la concentración de proteína se determinó mediante A280 utilizando un espectrofotómetro Nanodrop. De manera similar, los mAb quiméricos de ser humano/rata procedentes de H2L2 (que tienen regiones variables humanas y regiones constantes de rata) se purificaron a partir de sobrenadantes de hibridoma mediante cromatografía con proteína G (Global Life Sciences Solutions, Marlborough, MA); la concentración de proteína se determinó mediante A280 utilizando un espectrofotómetro Nanodrop.

[0360] Los mAb murinos Balb/cJ se analizaron para determinar la unión a CEACAM5 en la superficie celular y la reactividad cruzada con CEACAM1, CEACAM6 y CEACAM8. Adicionalmente, los mAb murinos Balb/cJ se analizaron para determinar la unión *in vitro* a CEACAM1, CEACAM5, CEACAM6 y CEACAM8 utilizando resonancia de plasmón superficial (SPR). El experimento se realizó a 37 °C para imitar la temperatura fisiológica utilizando un instrumento Carterra LSA o Biacore 8K.

[0361] Los mAb quiméricos de ser humano/rata procedentes de H2L2 se analizaron para

determinar la unión a CEACAM5 en la superficie celular y la reactividad cruzada con CEACAM1, CEACAM6 y CEACAM8. Adicionalmente, los mAb quiméricos de ser humano/rata procedentes de H2L2 se analizaron para determinar la unión *in vitro* a CEACAM5, CEACAM1, CEACAM6 y CEACAM8 utilizando resonancia de plasmón superficial (SPR). El experimento se realizó a 37 °C para imitar la temperatura fisiológica utilizando un instrumento Carterra LSA o Biacore 8K.

Ejemplo 2. Generación de proteínas de unión con tecnología de presentación de fagos

[0362] Utilizando tecnología de presentación de levaduras mediante la construcción de bibliotecas inmunitarias H2L2, se generaron proteínas de unión (*binders*) de CEACAM5 adicionales. Resumiendo, se transfectaron levaduras con construcciones iniciadoras que comprendían secuencias precursoras de VH y/o VL de CEACAM5. Se seleccionaron nuevos clones y las proteínas de unión se aislaron y caracterizaron como se ha descrito anteriormente.

Cepas de levadura y plásmidos

[0363] La cepa auxótrofa MATa de *Saccharomyces cerevisiae* EBY100 (Meyen ex E.C. Hansen (ATCC® MYA-4941™)), con marcadores seleccionables de leucina y triptófano, se utilizó para la construcción de la biblioteca de presentación de scFv de levadura. La cepa EBY100 tiene una inserción genómica de AGA1 para la presentación en superficie; su expresión está regulada por el promotor de la galactosa con un marcador seleccionable de uracilo. Cada scFv también contiene una etiqueta indicadora carboxiterminal también controlada por el promotor de la galactosa.

Construcción de la biblioteca de presentación de scFv en levadura inmune a CEACAM5

[0364] Después del procedimiento de inmunización, se recogieron esplenocitos de ratón, el ARN se extrajo con un kit de aislamiento de ARN de alta pureza (Roche, producto n.º 11828665001) y se realizó RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real) para generar bibliotecas de ADNc (Invitrogen, 18090010) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El ADNc se utilizó como molde para la amplificación de genes de anticuerpos de la región variable de cadena pesada (VH) y de cadena ligera (VL; solo kappa), que después se ensamblaron en bibliotecas de fragmentos de anticuerpos monocatenarios (scFv) en ambas orientaciones (scFv VH-VL o VL-VH). Las bibliotecas de scFv se integraron en un vector de presentación de levadura en la superficie después de la transformación (electroporación) y la recombinación homóloga.

Aislamiento de proteínas de unión de scFv específicas de CEACAM5 de la biblioteca

[0365] Después de la electroporación, las células de levadura se cultivaron en los medios seleccionables (Teknova producto n.º C8240). A continuación, se indujo a las bibliotecas de scFv a presentar los scFv en la superficie de las células de levadura cambiando a los medios de galactosa. El aislamiento de las proteínas de unión específicas de CEACAM5 se efectuó mediante 3 rondas de selección. En primer lugar, la biblioteca se exploró con respecto a la obtención de resultados positivos de CEACAM5 humana utilizando clasificación celular activada magnéticamente (MACS, *magnetic activated cell sorting*), seguido de dos rondas de selección mediante clasificación celular activada por fluorescencia (FACS, *fluorescence-activated cell sorting*), dando como resultado un panel de scFv específicos de CEACAM5. Los clones de scFv individuales se caracterizaron por su afinidad y especificidad de unión a CEACAM5 mientras se presentaban en levaduras, y después se llevaron a vectores para su expresión en células de mamífero utilizando técnicas de biología molecular conocidas en la materia.

Ejemplo 3. Humanización y creación de variantes para determinar la responsabilidad secuencial

[0366] Los mAb de hibridoma de Balb/cJ se humanizaron. Se generaron variantes humanizadas injertando las CDR murinas en regiones marco humanas. Se humanizaron los siguientes clones: 1A1.A3-CEACAM5-B.02 de murino y 16F6.A2-CEACAM5-B.02 de murino. Sus secuencias y las de sus variantes humanizadas se proporcionan en la Tabla 4. Las secuencias de VH y VL murinas del clon 16F6.A2-CEACAM5-B.02 se contrastaron con la base de datos de secuencias humanas para identificar la región marco apropiada para albergar las CDR.IGHV1-2*02 (identidad de secuencia: 66,3 %) e IGKV4-1*01 (identidad de secuencia: 80,2 %) se seleccionaron para avanzar. Se construyó un modelo estructural para inspeccionar e identificar posibles retromutaciones. Después de injertar las regiones hipervariables del anticuerpo murino correspondiente en las regiones marco humanas anteriores, se introdujeron las siguientes retromutaciones en la cadena pesada de la región variable (VH): V67T, M69L, R71A, S76P y A93T (todas según la numeración de Chothia). No hubo retromutaciones en la cadena ligera de la región variable (VL).

[0367] Las secuencias de VH y VL murinas del clon 1A1.A3 se contrastaron con la base de datos de secuencias humanas para identificar la región marco apropiada para albergar las CDR.IGHV1-69-2*01 (identidad de secuencia: 63,5%) e IGKV3-11*01 (identidad de secuencia: 64,2%) se seleccionaron para avanzar. Se construyó un modelo estructural para inspeccionar e identificar posibles retromutaciones. Después de injertar las regiones hipervariables del anticuerpo murino correspondiente en las regiones marco humanas anteriores, se introdujeron las

siguientes retromutaciones en VH: V5Q, K12V, I20L, V24A, Q38T, M48I, V67A, I69M, M80L, A93N y T94V (todas según la numeración de Chothia). También se introdujeron las siguientes retromutaciones en VL: L13A, Y36F, L47W, I58V y F71Y.

[0368] Se examinaron las posibles responsabilidades secuenciales de los clones. Se consideraron las siguientes responsabilidades secuenciales: M (posible lugar de oxidación); motivo de secuencia NG, NS y NT (posible lugar de desamidación); motivo de secuencia DG, DS y DT (posible lugar de isomerización); y motivo de secuencia DP (posible lugar para la hidrólisis química). Para eliminar los supuestos motivos de responsabilidad secuencial se diseñaron variantes de estos anticuerpos; las secuencias de dichas variantes se proporcionan en la Tabla 4.

Ejemplo 4. Clasificación de los anticuerpos monoclonales

[0369] Los mAb se clasificaron por nivel (niveles 1, 2 y 3), como se indica en las Tablas 3 y 4. Los mAb clasificados como "Nivel 1" eran mAb de alta afinidad específicos de CEACAM5, con valores de K_D inferiores o iguales a aproximadamente 15 nM (p. ej., un intervalo de K_D de aproximadamente 4 nM a aproximadamente 15 nM). Los mAb clasificados como de Nivel 2 eran mAb de afinidad media y baja específicos de CEACAM5, con valores de K_D que variaban de aproximadamente 25 nM a aproximadamente 80 nM (afinidad media) y de aproximadamente 120 nM a aproximadamente 560 nM (afinidad baja). Los mAb clasificados como de "Nivel 3" eran mAb que, además de unirse a CEACAM5, mostraron un nivel bajo de reactividad cruzada con CEACAM1, CEACAM6 y CEACAM8. A efectos de la clasificación, los mAb generados por el método del Ejemplo 1 se evaluaron en el formato de mAb, y los mAb generados por el método del Ejemplo 2 se evaluaron en el formato de un anticuerpo multiespecífico que contiene un scFv que se une a CEACAM5 y un fragmento Fab que se une a un antígeno diferente.

[0370] Los clones de cada nivel se enumeran en la Tabla 13 a continuación. Las secuencias de VH, VL y CDR de estos clones se proporcionan en la Tabla 4.

Tabla 13. Clasificación de clones de anticuerpos

Nivel	Biblioteca de origen	Clones
Nivel 1	Biblioteca de levadura inmunitaria de H2L2 (anticuerpos completamente humanos)	Clon PH_420-CEACAM5 1078_C04-CEACAM5 1079_H05-CEACAM5

Nivel 1	Biblioteca de hibridomas de H2L2 (anticuerpos completamente humanos)	7A10.A7-CEACAM5-B.01 8H2.B10-CEACAM5-B.01
Nivel 1	Biblioteca de hibridomas de Balb/cJ (anticuerpos murinos y humanizados)	16F6.A2-CEACAM5-B.02 de murino 16F6.A2-CEACAM5-B.02-BM humanizada
Nivel 2	Biblioteca de levadura inmunitaria de H2L2 (anticuerpos completamente humanos)	PH_415-CEACAM5 PH_416-CEACAM5 PH_417-CEACAM5 PH_418-CEACAM5 PH_419-CEACAM5 PH_421-CEACAM5 1078_G03-CEACAM5 1081_E01-CEACAM5
Nivel 2	Biblioteca de hibridomas de Balb/cJ (anticuerpos murinos y humanizados)	1A1.A3-CEACAM5-B.02 de murino 1A1.A3-CEACAM5-B.02-BM humanizada 7E11.B2-CEACAM5-B.02 4B10.B3-CEACAM5-A.02 10D6.E3-CEACAM5-B.02 13C7.A6-CEACAM5-B.02 13C7.F2-CEACAM5-B.02 16B11.G2-CEACAM5-B.01
Nivel 2	Biblioteca de hibridomas de H2L2 (anticuerpos completamente humanos)	12A6.H2-CEACAM5-B.01 4G3.C3-CEACAM5-B.01
Nivel 3	Biblioteca de levadura inmunitaria de H2L2 (anticuerpos	1080_G01-CEACAM5 1078_C12-CEACAM5 1078_F02-CEACAM5

	completamente humanos)	1078_G03-CEACAM5 1079_A10-CEACAM5 1079_A12-CEACAM5 1079_B08-CEACAM5 1078_C04-CEACAM5 1080_F11-CEACAM5 1083_A05-CEACAM5 1085_D12-CEACAM5 1079_G12-CEACAM5 1080_A01-CEACAM5
Nivel 3	Biblioteca de hibridomas de H2L2 (anticuerpos completamente humanos)	12C7.A2-CEACAM5-B.01
Nivel 3	Biblioteca de hibridomas de Balb/cJ (anticuerpos murinos y humanizados)	6D10.C8-CEACAM5-B.02

Ejemplo 5. Unión a NKG2D de los dominios de unión a NKG2D

Afinidades de unión de varios dominios de unión a NKG2D

[0371] Los parámetros cinéticos y la afinidad de varios dominios de unión a NKG2D se evaluaron mediante resonancia de plasmón superficial utilizando el instrumento Biacore 8K (GE Healthcare). El anticuerpo anti Fc humano se inmovilizó en una microplaca CM5 utilizando química de acoplamiento de amina estándar. Los anticuerpos monoclonales humanos que contenían varios dominios de unión a NKG2D se capturaron en la microplaca, que contenía el anticuerpo anti Fc humano, a una densidad de aproximadamente 100 UR. Se inyectaron soluciones que contenían dímeros solubles de Fc de NKG2D de ser humano y ratón 0,411 – 100 nM sobre los anticuerpos de NKG2D capturados y las superficies de control a 30 µl/min a 37 °C. Las superficies se regeneraron entre ciclos mediante inyección rápida de glicina 10 mM, pH 1,8. Para obtener constantes de velocidad cinética, los datos con doble referencia se ajustaron a un modelo de interacción 1:1 utilizando el programa informático de evaluación Biacore 8K (GE

Healthcare). La constante de unión en equilibrio K_D se determinó mediante la relación entre la constante de disociación k_d y la constante de asociación k_a (k_d/k_a). Como se muestra en la Tabla 14 a continuación, las afinidades de unión de los dominios de unión de NKG2D por NKG2D están en el intervalo de 10 a 62 nM.

Tabla 14. Afinidad de unión de los dominios de unión a NKG2D

Dominio de unión a NKG2D	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (nM)
ADI-27744 (A44)	2,95E+05	2,99E-03	10,1
ADI-27749 (A49)	3,95E+05	4,89E-03	12,4
ADI-29378 (E78)	8,32E+05	4,87E-02	58,5
ADI-29379 (E79)	4,43E+05	2,25E-02	50,7
ADI-29463 (F63)	1,64E+06	1,01E-01	61,8

Unión a NKG2D recombinante purificada de los dominios de unión a NKG2D

[0372] Las secuencias de ácido nucleico de ectodominios de NKG2D de ser humano, ratón o *cynomolgus* se fusionaron con secuencias de ácido nucleico que codifican dominios de Fc de IgG1 humana y se introdujeron en células de mamífero para su expresión. Después de la purificación, las proteínas de fusión NKG2D-Fc se adsorbieron en pocillos de microplacas. Después de bloquear los pocillos con seroalbúmina bovina para impedir la unión inespecífica, los dominios de unión a NKG2D se titularon y se añadieron a los pocillos preadsorbidos con proteínas de fusión NKG2D-Fc. La unión del anticuerpo primario se detectó utilizando un anticuerpo secundario que se conjugó con peroxidasa de rábano picante y que reconoce específicamente una cadena ligera kappa humana para impedir la reactividad cruzada de Fc. Para visualizar la señal de unión, se añadió a los pocillos 3,3',5,5'-Tetrametilbencidina (TMB), un sustrato para la peroxidasa de rábano picante, cuya absorbancia se midió a 450 nM y se corrigió a 540 nM. A cada pocillo se añadió un clon de dominio de unión a NKG2D, un control de isotipo o un control positivo (que comprendía dominios variables de cadena pesada y cadena ligera seleccionados del grupo que consistía en: las SEQ ID NO: 526-529, o clones anti NKG2D de ratón, MI-6 y CX-5, disponibles en eBioscience).

[0373] El control de isotipo mostró una unión mínima a las proteínas NKG2D-Fc recombinantes, mientras que el control positivo se unió con más fuerza a los antígenos

recombinantes. Los dominios de unión a NKG2D producidos por todos los clones demostraron unión entre las proteínas NKG2D-Fc recombinantes de ser humano, ratón y *cynomolgus*, aunque con afinidades variables de un clon a otro. Generalmente, cada clon anti-NKG2D se unió a NKG2D-Fc recombinante de ser humano (**FIG. 18**) y *cynomolgus* (**FIG. 19**) con afinidad similar, pero con menor afinidad a NKG2D-Fc recombinante de ratón (**FIG. 20**).

Unión de los dominios de unión a NKG2D a células que expresan NKG2D

[0374] Se genomodificaron líneas celulares de linfoma de ratón EL4 para expresar receptores quiméricos para el antígeno del dominio de señalización NKG2D-CD3 zeta de ser humano o de ratón. Para teñir la NKG2D extracelular expresada en las células EL4, se utilizó un clon de unión a NKG2D, un control de isotipo o un control positivo a una concentración de 100 nM. La unión del anticuerpo se detectó utilizando anticuerpos secundarios anti IgG humana conjugados con fluoróforo. Las células se analizaron mediante citometría de flujo y se calculó el incremento sobre el fondo (FOB) utilizando la intensidad de fluorescencia media (IFM) de las células que expresaban NKG2D en comparación con las células EL4 precursoras.

[0375] Los dominios de unión a NKG2D producidos por todos los clones se unieron a células EL4 que expresaban NKG2D de ser humano y de ratón. Los anticuerpos de control positivo (que comprendían dominios variables de cadena pesada y cadena ligera seleccionados del grupo que consistía en: las SEQ ID NO: 526-529, o clones anti NKG2D de ratón, MI-6 y CX-5, disponibles en eBioscience) dieron la mejor señal de unión FOB. La afinidad de unión por NKG2D de cada clon fue similar entre las células que expresaban la NKG2D de ser humano (**FIG. 21**) y la NKG2D de ratón (**FIG. 22**).

Ejemplo 6. Bloqueo de la unión del ligando natural con NKG2D de los dominios de unión a NKG2D

Competencia con ULBP-6

[0376] Las proteínas NKG2D-Fc humanas recombinantes se adsorbieron en pocillos de una microplaca y los pocillos se bloquearon con seroalbúmina bovina para reducir la unión inespecífica. A los pocillos se añadió una concentración saturada de ULBP-6-His-biotina, seguido de la adición de los clones de dominio de unión a NKG2D. Después de una incubación de 2 horas, los pocillos se lavaron y la ULBP-6-His-biotina que permaneció unida a los pocillos recubiertos con NKG2D-Fc se detectó mediante estreptavidina conjugada con peroxidasa de rábano picante y sustrato TMB. La absorbancia se midió a 450 nM y se corrigió a 540 nM. Después de sustraer el fondo, se calculó la unión específica de los dominios de unión a NKG2D a

las proteínas NKG2D-Fc a partir del porcentaje de ULBP-6-His-biotina cuya unión a las proteínas NKG2D-Fc se bloqueó en los pocillos. El anticuerpo de control positivo (que comprendía los dominios variables de cadena pesada y cadena ligera seleccionados del grupo que consistía en: las SEQ ID NO: 526-529) y varios dominios de unión a NKG2D, bloquearon la unión de ULBP-6 a NKG2D, mientras que el control de isotipo mostró poca competencia con ULBP-6 (**FIG. 23**).

[0377] La secuencia de ULBP-6 se representa por la SEQ ID NO:566.

MAAAAI PALLLCLPLLFLFGWSRARRDDPHSLCYDITVIPKFRPGPRWCAVQGQVDEK
TFLHYDCGNKTVTPVSPLGKKLNVTMAWKAQNPVLREVVDILTEQLLDIQLENYTPKEP
LTLQARMSCEQKAEGHSSGSWQFSIDGQTFLFLDSEKRMWTTVHPGARKMKEKWEND
KDVAMSFHYISMGDCIGWLEDFLMGMDSTLEPSAGAPLAMSSGTTQLRATATTLILCCL
LIILPCFILPGI (SEQ ID NO:566)

Competencia con MICA

[0378] Las proteínas MICA-Fc humanas recombinantes se adsorbieron en pocillos de una microplaca y los pocillos se bloquearon con seroalbúmina bovina para reducir la unión inespecífica. Se añadió NKG2D-Fc-biotina a los pocillos seguido de dominios de unión a NKG2D. Después de la incubación y el lavado, la NKG2D-Fc-biotina que permaneció unida a los pocillos recubiertos con MICA-Fc se detectó utilizando sustrato de estreptavidina-HRP y TMB. La absorbancia se midió a 450 nM y se corrigió a 540 nM. Después de sustraer el fondo, se calculó la unión específica de los dominios de unión a NKG2D a las proteínas NKG2D-Fc a partir del porcentaje de NKG2D-Fc-biotina cuya unión a la proteína MICA-Fc se bloqueó en los pocillos recubiertos. El anticuerpo de control positivo (que comprendía los dominios variables de cadena pesada y cadena ligera seleccionados del grupo que consistía en: las SEQ ID NO: 526-529) y varios dominios de unión a NKG2D bloquearon la unión de MICA a NKG2D, mientras que el control de isotipo mostró poca competencia con MICA (**FIG. 24**).

Competencia con Rae-1 delta

[0379] Rae-1delta-Fc de ratón recombinante (adquirida en R&D Systems) se adsorbió en pocillos de una microplaca, y los pocillos se bloquearon con seroalbúmina bovina para reducir la unión inespecífica. Se añadió NKG2D-Fc-biotina de ratón a los pocillos seguido de dominios de unión a NKG2D. Después de la incubación y el lavado, la NKG2D-Fc-biotina que permaneció unida a los pocillos recubiertos con Rae-1delta-Fc se detectó utilizando estreptavidina-HRP y sustrato TMB. La absorbancia se midió a 450 nM y se corrigió a 540 nM. Después de sustraer el

fondo, se calculó la unión específica de los dominios de unión a NKG2D a las proteínas NKG2D-Fc a partir del porcentaje de NKG2D-Fc-biotina cuya unión a la proteína Rae-1delta-Fc se bloqueó en los pocillos recubiertos. El control positivo (que comprendía los dominios variables de cadena pesada y cadena ligera seleccionados del grupo que consistía en: las SEQ ID NO: 526-529, o clones anti NKG2D de ratón, MI-6 y CX-5, disponibles en eBioscience) y varios clones de dominio de unión a NKG2D bloquearon la unión de Rae-1delta a NKG2D de ratón, mientras que el anticuerpo de control de isotipo mostró poca competencia con Rae-1delta (**FIG. 25**).

Ejemplo 7. Los clones de dominio de unión a NKG2D activan la NKG2D

[0380] Para obtener construcciones de receptor quimérico para el antígeno (CAR, *chimeric antigen receptor*), se fusionaron secuencias de ácido nucleico de NKG2D de ser humano y de ratón con secuencias de ácido nucleico que codificaban un dominio de señalización CD3 zeta. A continuación, las construcciones NKG2D-CAR se clonaron en un vector de retrovirus utilizando el ensamblaje de Gibson y se transfectaron en células expi293 para la producción de retrovirus. Células EL4 se infectaron con virus que contenían NKG2D-CAR junto con 8 µg/ml de polibreno. Veinticuatro horas después de la infección, los niveles de expresión de NKG2D-CAR en las células EL4 se analizaron mediante citometría de flujo y se seleccionaron los clones que expresaban altos niveles de NKG2D-CAR en la superficie celular.

[0381] Para determinar si los dominios de unión a NKG2D activan la NKG2D, se adsorbieron en pocillos de una microplaca y durante 4 horas las células EL4 NKG2D-CAR se cultivaron en pocillos recubiertos con fragmentos de anticuerpo en presencia de brefeldin A y monensina. La producción intracelular de TNF- α , un indicador para la activación de NKG2D, se ensayó mediante citometría de flujo. El porcentaje de células TNF- α positivas se normalizó con respecto a las células tratadas con el control positivo. Todos los dominios de unión a NKG2D activaron tanto la NKG2D humana (**FIG. 26**) como la NKG2D de ratón (**FIG. 27**).

Ejemplo 8. Los dominios de unión a NKG2D activan las células NK

Células NK humanas primarias

[0382] Utilizando centrifugación en gradiente de densidad, se aislaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC, siglas del inglés) de capas leucoplaquetarias de sangre periférica humana. Las células NK (CD3⁻ CD56⁺) se aislaron de las PBMC mediante selección negativa con perlas magnéticas y la pureza de las células NK aisladas fue normalmente >95 %. Después, las células NK aisladas se cultivaron durante 24-48 horas en medios que contenían 100 ng/ml de IL-

2 antes de transferirlas a los pocillos de una microplaca en la que se adsorbieron los dominios de unión a NKG2D, y se cultivaron en medios que contenían anticuerpo conjugado con fluoróforo anti-CD107a, brefeldina-A y monensina. Después del cultivo, las células NK se evaluaron mediante citometría de flujo utilizando anticuerpos conjugados con fluoróforo contra CD3, CD56 e IFN- γ . La tinción de CD107a e IFN- γ se analizó en células CD3⁻ CD56⁺ para evaluar la activación de las células NK. El aumento de células CD107a/IFN- γ doble positivas, es indicativo de una mejor activación de las células NK a través del acoplamiento de dos receptores activadores en lugar de un receptor. Los dominios de unión a NKG2D y el control positivo (p. ej., el dominio variable de cadena pesada representado por SEQ ID NO:526 o SEQ ID NO:528, y el dominio variable de cadena ligera representado por SEQ ID NO:527 o SEQ ID NO:529) mostró un mayor porcentaje de células NK que se convirtieron en CD107a⁺ and IFN- γ ⁺ que el control de isotipo (las **FIG. 28** y **FIG. 29** representan datos de dos experimentos independientes, cada uno de ellos utilizando las PBMC de un donante diferente para la preparación de células NK).

Células NK primarias de ratón

[0383] Se obtuvieron bazos de ratones C57Bl/6 y para obtener una suspensión de células disociadas se trituraron a través de un filtro de células de 70 μ m. Las células se sedimentaron y se resuspendieron en tampón de lisis ACK (adquirido en Thermo Fisher Scientific n.º A1049201; cloruro de amonio 155 mM, bicarbonato de potasio 10 mM, EDTA 0,01 mM) para eliminar los glóbulos rojos. Las células restantes se cultivaron con 100 ng/ml de hIL-2 durante 72 horas antes de recogerlas y prepararlas para el aislamiento de células NK. Después, las células NK (CD3⁻ NK1.1⁺) se aislaron de los esplenocitos utilizando una técnica de agotamiento negativo con perlas magnéticas con una pureza normalmente >90 %. Las células NK purificadas se cultivaron durante 48 horas en medios que contenían 100 ng/ml de mIL-15 antes de transferirlas a los pocillos de una microplaca en la que se adsorbieron los dominios de unión a NKG2D, y se cultivaron en medios que contenían anticuerpo conjugado con fluoróforo anti-CD107a, brefeldina-A y monensina. Después del cultivo en pocillos recubiertos con dominio de unión a NKG2D, las células NK se evaluaron mediante citometría de flujo utilizando anticuerpos conjugados con fluoróforo contra CD3, NK1.1 e IFN- γ . La tinción de CD107a e IFN- γ se analizó en células CD3⁻ NK1.1⁺ para evaluar la activación de las células NK. El aumento de células CD107a/IFN- γ doble positivas, es indicativo de una mejor activación de las células NK a través del acoplamiento de dos receptores activadores en lugar de un receptor. Los dominios de unión a NKG2D y el control positivo (seleccionado del grupo que consiste en: clones anti NKG2D de

ratón, MI-6 y CX-5, disponibles en eBioscience) mostraron un mayor porcentaje de células NK que se convirtieron en CD107a⁺ and IFN- γ ⁺ que el control de isotipo (las **FIG. 30** y **FIG. 31** representan datos de dos experimentos independientes, cada uno de ellos utilizando un ratón diferente para la preparación de células NK).

Ejemplo 9. Los dominios de unión a NKG2D permiten la citotoxicidad de las células tumorales diana

[0384] Los ensayos de activación de células NK primarias humanas y de ratón demostraron un aumento de los marcadores de citotoxicidad en las células NK después de la incubación con los dominios de unión a NKG2D. Para abordar si esto se traduce en un aumento de la lisis de las células tumorales, se utilizó un ensayo basado en células donde cada dominio de unión a NKG2D se desarrolló en un anticuerpo monoespecífico. La región Fc se utilizó como un brazo de direccionamiento, mientras que la región del fragmento Fab (dominio de unión a NKG2D) actuó como otro brazo de direccionamiento para activar las células NK. Las células THP-1, que son de origen humano y que expresan altos niveles de receptores Fc, se utilizaron como diana tumoral y se utilizó un kit de citotoxicidad DELFIA de Perkin Elmer. Las células THP-1 se marcaron con reactivo BATDA y se resuspendieron a 10⁵/ml en medios de cultivo. A continuación, las células THP-1 marcadas se combinaron con anticuerpos contra NKG2D y células NK de ratón aisladas en pocillos de una placa de microtitulación a 37 °C durante 3 horas. Después de la incubación, se retiraron 20 μ l del sobrenadante del cultivo, se mezclaron con 200 μ l de solución de europio y se incubaron en la oscuridad agitando durante 15 minutos. La fluorescencia se midió a lo largo del tiempo con un lector de placas PheraStar dotado de un módulo de fluorescencia de resolución temporal (Excitación a 337 nm, Emisión a 620 nm) y se calculó la lisis específica según las instrucciones del kit.

[0385] El control positivo, ULBP-6 - un ligando natural para NKG2D, mostró un aumento de la lisis específica de las células diana THP-1 por las células NK de ratón. Los anticuerpos contra NKG2D también aumentaron la lisis específica de las células diana THP-1, mientras que el anticuerpo de control de isotipo mostró una lisis específica reducida. La línea discontinua indica la lisis específica de células THP-1 por células NK de ratón sin anticuerpo añadido (**FIG. 32**).

Ejemplo 10. Los anticuerpos contra NKG2D muestran termoestabilidad elevada

[0386] Las temperaturas de fusión de los dominios de unión a NKG2D se analizaron mediante fluorimetría diferencial de barrido. Las temperaturas de fusión aparentes extrapoladas son altas en relación con los anticuerpos de IgG1 habituales (**FIG. 33**).

Ejemplo 11. Activación sinérgica de células NK humanas mediante entrecruzamiento de NKG2D y CD16

Ensayo de activación de células NK humanas primarias

[0387] Utilizando centrifugación en gradiente de densidad, se aislaron células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de capas leucoplaquetarias de sangre periférica humana. Las células NK se purificaron de las PBMC utilizando perlas magnéticas negativas (StemCell, n.º 17955). Las células NK eran >90 % de CD3⁻CD56⁺ según lo determinado por citometría de flujo. Después, antes de su uso en los ensayos de activación, las células se expandieron durante 48 horas en medios que contenían 100 ng/ml de hIL-2 (PeproTech, n.º 200-02). Los anticuerpos se recubrieron en una placa de fondo plano de 96 pocillos a una concentración de 2 µg/ml (anti-CD16, Biolegend, n.º 302013) y 5 µg/ml (anti-NKG2D, R&D n.º MAB139) en 100 µl de PBS estéril durante la noche a 4 °C, seguido de un lavado exhaustivo de los pocillos para eliminar el exceso de anticuerpos. Para la evaluación de la desgranulación, las células NK activadas con IL-2 se resuspendieron a 5×10⁵ células/ml en medios de cultivo complementados con 100 ng/ml de IL-2 humana (hIL2) y 1 µg/ml de mAb anti-CD107a conjugado con APC (Biolegend n.º 328619). Después, se añadieron 1×10⁵ células/pocillo a las placas recubiertas con anticuerpos. Los inhibidores del transporte de proteínas Brefeldin A (BFA, Biolegend n.º 420601) y Monensina (Biolegend n.º 420701) se añadieron a una dilución final de 1:1000 y 1:270, respectivamente. Las células de las placas se incubaron durante 4 horas a 37 °C en CO₂ al 5 %. Para la tinción intracelular de IFN-γ, las células NK se marcaron con mAb anti-CD3 (Biolegend n.º 300452) y anti-CD56 (Biolegend n.º 318328), y posteriormente se fijaron, se permeabilizaron y se marcaron con mAb anti-IFN-γ (Biolegend n.º 506507). Las células NK se analizaron para determinar la expresión de CD107a e IFN-γ mediante citometría de flujo después de seleccionar células CD56⁺CD3⁻ vivas.

[0388] Para investigar la fuerza relativa de la combinación de receptores, se realizó el entrecruzamiento de NKG2D o CD16, y el entrecruzamiento conjunto de ambos receptores mediante estimulación en placa. Como se muestra en la Figura 34 (**FIG. 34A-34C**), la estimulación combinada de CD16 y NKG2D dio como resultado niveles muy elevados de CD107a (desgranulación) (**FIG 34A**) y/o la producción de IFN-γ (**FIG. 34B**). Las líneas discontinuas representan un efecto aditivo de estimulaciones individuales de cada receptor.

[0389] Los niveles de CD107a y la producción de IFN-γ intracelular de células NK activadas con IL-2 se analizaron después de 4 horas de estimulación en placa con anti-CD16, anti-NKG2D o una combinación de ambos anticuerpos monoclonales. Los gráficos indican la media (n = 2) ±

DE. La **FIG. 34A** demuestra niveles de CD107a; La **FIG. 34B** demuestra niveles de IFN- γ ; La **FIG. 34C** demuestra niveles de CD107a e IFN- γ . Los datos mostrados en las **FIG. 34A-34C** son representativos de cinco experimentos independientes con cinco donantes sanos diferentes.

Ejemplo 12. Generación de proteínas de unión a CEACAM5 TriNKET

Creación de scFv AB0264 y AB0621 a partir de AB0131

[0390] AB0131 es un scFv identificado a partir de los trabajos de inmunización con ratones BALB/c descritos en el Ejemplo 1. AB0131 procedía del clon 16F6.A2-CEACAM5-B.02-BM. Para generar AB0264 humanizado, se introdujeron cinco (5) retromutaciones en el dominio VH de AB0131 y se introdujeron dos (2) cisteínas para estabilizar los enlaces disulfuro. La secuencia polipeptídica de scFv de AB0264 se expone a continuación como SEQ ID NO:703. Las retromutaciones se identifican con letras en negrita y las cisteínas introducidas se identifican con subrayado en negrita.

[0391] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSHSLLYGNFQNNYLAWYQQKPGQPPKL
LIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQYYSPYTFG**C**GTKLEI
KGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTAYTIHW
VRQAPGQ**C**LEWMGYINPSSGYTEYNQKFKDR**T**LTADTS**I**PTAYMELSRRLRSDDTAVY
YCTREGGLLWFDYWGQGLVTVSS) (SEQ ID NO:703)

[0392] Se descubrió que, en las regiones marco humanas, había un resto de prolina en el dominio VH de AB0264 a una frecuencia <1 %. Este resto, identificado en cursiva y negrita, se sustituyó por serina (36 % de las secuencias marco humanas; Abysis) para generar AB0621. La secuencia polipeptídica de scFv de AB0621 se expone a continuación como SEQ ID NO:714.

[0393] DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSHSLLYGNFQNNYLAWYQQKPGQPPKL
LIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEDVAVYYCQQYYSPYTFG**C**GTKLEI
KGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTAYTIHW
VRQAPGQ**C**LEWMGYINPSSGYTEYNQKFKDR**T**LTADTS**I**STAYMELSRRLRSDDTAVY
YCTREGGLLWFDYWGQGLVTVSS (SEQ ID NO:714)

Creación de scFv AB0411 a partir de AB0100

[0394] AB0100 es un scFv completamente humano identificado consultando la biblioteca inmunitaria de levadura H2L2 descrita en el Ejemplo 2. AB0100 procedía de una variante del clon 1078_C04CEACAM5. Se descubrió que, en las regiones marco humanas, había un resto de glutamina en el dominio VH de AB0100 a una frecuencia <1 %. Para generar AB0411, el resto de glutamina se sustituyó por una leucina (63 % de regiones marco humanas; Abysis), y se

introdujeron dos (2) cisteínas para estabilizar los enlaces disulfuro. La secuencia polipeptídica de scFv de AB0411 se expone a continuación como SEQ ID NO:707. Las cisteínas estabilizadoras se identifican subrayadas en negrita y la sustitución de leucina se muestra en cursiva y negrita.

[0395] DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAS
SRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYNNWPLTFG**C**GTKVEIKGGGGS
GGGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAPG
K**C**LEWVSAISGTGDSTFYADSVKGRFTFSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDL
GWLQYGLFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:707)

Creación de scFv AB0466 a partir de AB0073

[0396] AB0073 es un scFv completamente humano identificado consultando la biblioteca inmunitaria de levadura H2L2 descrita en el Ejemplo 2. AB0073 procedía de una variante del clon PH_420-CEACAM5. Se descubrió que, en las regiones marco humanas, había un resto de arginina en el dominio VH de AB0073 a una frecuencia menor de <1 %. Para generar AB0466, el resto de arginina se sustituyó por una glutamina (15 % de regiones marco humanas; Abysis). Además, un motivo NS en el dominio VH se sustituyó por un SS y un motivo NS del dominio VL se sustituyó por un NA porque se confirmó que los motivos NS experimentaban desamidación después del estrés. Finalmente, se introdujeron dos (2) cisteínas para estabilizar los enlaces disulfuro. La secuencia polipeptídica de scFv de AB0466 se expone a continuación como SEQ ID NO:710. Las cisteínas estabilizadoras se identifican subrayadas en negrita y las restantes sustituciones de aminoácidos se muestran en cursiva y negrita.

[0397] DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCWASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASS
LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYYCQQYNA^YSYTFG**C**GTKLEIKGGGGSG
GGGSGGGSGGGGSQVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPGK
CLEWVSAIFSSGGSTYYADSVKGRFTVSRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDLG
GYNIGLFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:710)

Creación de proteínas de unión multiespecíficas F3' CEACAM5 TriNKET

[0398] Los scFv AB0264, AB0621, AB0411 y AB0466 descritos anteriormente, se rediseñaron como proteínas de unión multiespecíficas F3' TriNKET. Las F3' TriNKET comprendían:

(a) una secuencia de scFv de unión a CEACAM5 que incluye un dominio variable de cadena ligera conectado al extremo C de un dominio variable de cadena pesada a través de un enlazador (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 532), en donde el scFv está ligado a un dominio Fc y el dominio Fc incluye las sustituciones Q347R, D399V y F405T para la heterodimerización y una sustitución S354C

para la formación de enlaces disulfuro; y

(b) un fragmento Fab de unión a NKG2D procedente de A49MI, que incluye una parte de cadena pesada que comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio CH1, y una parte de cadena ligera que comprende un dominio variable de cadena ligera y un dominio constante de cadena ligera, en donde el dominio CH1 está ligado a un dominio Fc, y en donde el dominio Fc incluye las sustituciones K360E y K409W para la heterodimerización y una sustitución Y349C para la formación de enlaces disulfuro. Las secuencias de aminoácidos de las proteínas de unión F3' CEACAM5 TriNKET se exponen en la Tabla 15 a continuación.

Tabla 15. Secuencias de aminoácidos de las proteínas de unión CEACAM5 TriNKET

Cadena pesada de A49 MI	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPG KGLEWVSSISSSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARGAPIGAAAGWFDPPWGQGTLLTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVCTLPSPRDELLENQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSWLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:549)
scFv de A49 MI	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQGVSPRTFGCGTKVEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSE VQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPG KCLEWVSSISSSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARGAPIGAAAGWFDPPWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:700)
VH de A49 MI y las CDR	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPG KGLEWVSSISSSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNS LRAEDTAVYYCARGAPIGAAAGWFDPPWGQGTLLTVSS (SEQ ID NO:508) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYSMN (SEQ ID NO:495) (Kabat) CDR2: SSSSSY (SEQ ID NO:701) (Chothia) o SISSSSSYIYYADSVKG (SEQ ID NO:496) (Kabat) CDR3: GAPIGAAAGWFDP (SEQ ID NO:510) (Chothia) o GAPIGAAAGWFDP (SEQ ID NO:510) (Kabat)
VL de A49 y las CDR	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWYQQKPGK APKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATY YCQQGVSPRTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:493)

	CDR1: RASQGISSWLA (SEQ ID NO:530) (Chothia) o RASQGISSWLA (SEQ ID NO:530) (Kabat) CDR2: AASSLQS (SEQ ID NO:224) (Chothia) o AASSLQS (SEQ ID NO:224) (Kabat) CDR3: QQGVSPFRT (SEQ ID NO:499) (Chothia) o QQGVSPFRT (SEQ ID NO:499) (Kabat)
Cadena pesada de AB0264	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSHSLLYGNFQNNYLAWY QQKPGQPPKLLIWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQA EDVAVYYCQQYYSPYTFGCGTKLEIKGGGSGGGSGGGG SGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTAYTIH WVRQAPGQCLEWMGYINPSSGYTEYNQKFKDRITLTADTSIP TAYMELSRLRSDDTAVYYCTREGGLLWFDYWGQGLTVTVSS GSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:702)
scFv de AB0264 (VL-VH)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSHSLLYGNFQNNYLAWY QQKPGQPPKLLIWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQA EDVAVYYCQQYYSPYTFGCGTKLEIKGGGSGGGSGGGG SGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTAYTIH WVRQAPGQCLEWMGYINPSSGYTEYNQKFKDRITLTADTSIP TAYMELSRLRSDDTAVYYCTREGGLLWFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:703)
VH de AB0264 y las CDR	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTAYTIHWVRQAP GQCLEWMGYINPSSGYTEYNQKFKDRITLTADTSIPTAYMEL SRLRSDDTAVYYCTREGGLLWFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:704) CDR1: GYTFTAY (SEQ ID NO:101) (Chothia) o AYTIH (SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID NO:105) (Chothia) o EGGLLWFDY (SEQ ID NO:105) (Kabat)
VL de AB0264 y las CDR	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSHSLLYGNFQNNYLAWY QQKPGQPPKLLIWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQA EDVAVYYCQQYYSPYTFGCGTKLEIK (SEQ ID NO:705) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) (Chothia) o KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) (Kabat) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) (Chothia) o WASTRES (SEQ ID NO:108) (Kabat) CDR3: QQYYSPYPT (SEQ ID NO:109) (Chothia) o

	QQYYSPYT (SEQ ID NO:109) (Kabat)
Cadena pesada de AB0411	DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCQQYNNWPLTFGCGTKVEIKGGGSGGGSGGGSGGGSGGGG QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAP GKCLEWVSAISGTGDSTFYADSVKGRFTFSRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKDLGWLQYGLFDYWQGQGLVTVSSGS DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVNV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPR VYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPVVLVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:706)
scFv de AB0411 (VL-VH)	DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCQQYNNWPLTFGCGTKVEIKGGGSGGGSGGGSGGGSGGGG QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAP GKCLEWVSAISGTGDSTFYADSVKGRFTFSRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKDLGWLQYGLFDYWQGQGLVTVSS (SEQ ID NO:707)
VH de AB0411 y las CDR	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAP GKCLEWVSAISGTGDSTFYADSVKGRFTFSRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKDLGWLQYGLFDYWQGQGLVTVSS (SEQ ID NO:708) CDR1: GFTFTSY (SEQ ID NO:35) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: SGTGDS (SEQ ID NO:36) (Chothia) o AISGTGDSTFYADSVKG (SEQ ID NO:37) (Kabat) CDR3: DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38) (Chothia) o DLGWLQYGLFDY (SEQ ID NO:38) (Kabat)
VL de AB0411 y las CDR	DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCQQYNNWPLTFGCGTKVEIK (SEQ ID NO:591) CDR1: RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) (Chothia) o RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO:40) (Kabat) CDR2: GASSRAT (SEQ ID NO:41) (Chothia) o GASSRAT (SEQ ID NO:41) (Kabat) CDR3: QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42) (Chothia) o QQYNNWPLT (SEQ ID NO:42) (Kabat)
Cadena pesada de AB0466	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCWASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDFFATYY CQQYNAYSITFGCGTKLEIKGGGSGGGSGGGSGGGSGGGG VQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMSWVRQAPG

	KCLEWVSAIFSSGGSTYYADSVKGRFTVSRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTALYYCAKDLGGYNYGLFDYWGQGTLVTVSSGSDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPRVY TLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:709)
scFv de AB0466 (VL-VH)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCWASQSISSWLAWYQQKPGK APKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISLQPDDEFATYY CQQYNAYSITFGCGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSSQ VQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPG KCLEWVSAIFSSGGSTYYADSVKGRFTVSRDNSKNTLYLQMN SLRAEDTALYYCAKDLGGYNYGLFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:710)
VH de AB0466 y las CDR	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMSWVRQAP GKCLEWVSAISGTGDSFTFYADSVKGRFTFSRDNSKNTLYLQM NSLRAEDTAVYYCAKDLGWLQYGLFDYWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO:711) CDR1: GFTFSSY (SEQ ID NO:2) (Chothia) o SYAMS (SEQ ID NO:3) (Kabat) CDR2: FSSGGS (SEQ ID NO:717) (Chothia) o AIFSSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:718) (Kabat) CDR3: DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6) (Chothia) o DLGGYNYGLFDY (SEQ ID NO:6) (Kabat)
VL de AB0466 y las CDR	DIQLTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQ APRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVY YCQQYNNWPLTFGCGTKVEIK (SEQ ID NO:712) CDR1: WASQSISSWLA (SEQ ID NO:7) (Chothia) o WASQSISSWLA (SEQ ID NO:7) (Kabat) CDR2: KASSLES (SEQ ID NO:8) (Chothia) o KASSLES (SEQ ID NO:8) (Kabat) CDR3: QQYNAYSIT (SEQ ID NO:27) (Chothia) o QQYNAYSIT (SEQ ID NO:27) (Kabat)
Cadena pesada de AB0621	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSHSLLYGNFQNNYLAWY QQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQA EDVAVYYCQQYYSPYTFGCGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTAYTIH WVRQAPGQCLEWMGYINPSSGYTEYNQKFKDRITLTADTSIS TAYMELSRLRSDDTAVYYCTREGGLLWFDYWGQGTLVTVSS GSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPRVYTLPPCRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

	ENNYKTTTPVLVSDGSFTLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG (SEQ ID NO:713)
scFv de AB0621 (VL-VH)	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSHSLLYGNFQNNYLAWY QQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQA EDVAVYYCQQYYSSYPYTFGCGTKLEIKGGGGSGGGGSGGGG SGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTAYTIH WVRQAPGQCLEWMGYINPSSGYTEYNQKFKDRITLTADTSIS TAYMELSRLSDDTAVYYCTREGGLLWFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:714)
VH de AB0621 y las CDR	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTAYTIHWVRQAP GQCLEWMGYINPSSGYTEYNQKFKDRITLTADTSISTAYMEL SRLSDDTAVYYCTREGGLLWFDYWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO:715) CDR1: GYTFTAY (SEQ ID NO:101) (Chothia) o AYTIH (SEQ ID NO:102) (Kabat) CDR2: NPSSGY (SEQ ID NO:103) (Chothia) o YINPSSGYTEYNQKFKD (SEQ ID NO:104) (Kabat) CDR3: EGGLLWFDY (SEQ ID NO:105) (Chothia) o EGGLLWFDY (SEQ ID NO:105) (Kabat)
VL de AB0621 y las CDR	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSHSLLYGNFQNNYLAWY QQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISLQA EDVAVYYCQQYYSSYPYTFGCGTKLEIK (SEQ ID NO:716) CDR1: KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) (Chothia) o KSSHSLLYGNFQNNYLA (SEQ ID NO:107) (Kabat) CDR2: WASTRES (SEQ ID NO:108) (Chothia) o WASTRES (SEQ ID NO:108) (Kabat) CDR3: QQYYSSYPYT (SEQ ID NO:109) (Chothia) o QQYYSSYPYT (SEQ ID NO:109) (Kabat)

Producción y purificación de las proteínas de unión multiespecíficas F3' CEACAM5 TriNKET

[0399] Las moléculas F3 'CEACAM5 TriNKET se expresaron de manera transitoria en células ovario de hámster chino (CHO) utilizando varias proporciones de ADN para las diversas cadenas de proteínas. El sobrenadante que contenía las moléculas expresadas se capturó del sobrenadante del cultivo mediante incubación durante la noche con resina de cromatografía de Proteína A utilizando métodos establecidos. Las moléculas de TriNKET unidas se eluyeron de la resina de Proteína A con glicina 0,1 M, pH 3,5.

[0400] Después de ajustar a un pH de 7,0, el eluido de la muestra se pasó a través de una resina de intercambio aniónico (AEX) y se recogió el flujo continuo. Después, el flujo continuo de la muestra se depuró mediante cromatografía de intercambio catiónico (CEX) utilizando

métodos tradicionales para obtener una pureza de >98 %, determinada mediante electroforesis en gel capilar, cromatografía analítica de exclusión por tamaño y masa intacta por espectrometría de masas.

Ejemplo 13. Unión de las CEACAM5 TriNKET a proteínas diana

Unión a CEACAM5 de ser humano y cynomolgus a un pH de 6,0 y 7,4

[0401] Para determinar la afinidad y la reactividad cruzada de las moléculas CEACAM5 TriNKET, Las TriNKET AB0411, AB0466 o AB0621 se capturaron utilizando un anticuerpo de captura anti Fc humano (Cytiva, n.º BR100839) inmovilizado en una microplaca detectora de superficie estándar CM5 de Biacore siguiendo las instrucciones del fabricante. La CEACAM5 de ser humano o de *cynomolgus* se tituló sobre AB0411, AB0466 y AB0621 capturados como diluciones en serie de factor 2 a partir de 300 nM. La asociación se controló durante 300 segundos y la disociación durante 600 segundos. El ensayo se realizó a 37 °C a un pH de 7,4 y 6,0. La superficie de la microplaca CM5 se regeneró con glicina 10 mM, a un pH de 1,5, durante 20 segundos a 100 µl/min.

[0402] Los resultados indican que AB0411 y AB0466 se unen a la CEACAM5 de ser humano pero no a la de *cynomolgus*, mostrando AB0411 una mayor afinidad que AB0466. AB0621 se une tanto a la CEACAM5 de ser humano como a la de *cynomolgus* a un pH de 7,4 y 6,0 con afinidades comparables a las de AB0466 con un ligero aumento de afinidad al pH más bajo. AB0264 mostró afinidades comparables a las de AB0621 pero contra el alelo K398 de la CEACAM5 de ser humano. Los resultados de los ensayos de unión *in vitro* se muestran en la Tabla 16.

Tabla 16. Ensayos de unión *in vitro* con CEACAM5 TriNKET

		CEACAM5 (E398) de ser humano			CEACAM5 de <i>cynomolgus</i>		
	37°C	ka (1/Ms)	kd (1/M)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/M)	KD (M)
AB0411	pH 7,4	2,7E+05	4,3E-04	1,7E-09	SU	SU	SU
	pH 6,0	3,1E+05	5,9E-04	1,9E-09	SU	SU	SU
AB0466	pH 7,4	1,9E+05	1,3E-03	7,2E-09	SU	SU	SU
	pH 6,0	1,6E+05	2,5E-03	1,5E-08	SU	SU	SU
AB0621	pH 7,4	1,0E+05	1,7E-03	1,7E-08	6,1E+04	8,4E-04	1,4E-08
	pH 6,0	1,4E+05	1,9E-03	1,4E-08	1,3E+05	8,1E-04	6,5E-09
AB0264*	pH 7,4	9,1E+04	1,2E-03	1,3E-08	ND	ND	ND
	pH 6,0	ND	ND	ND	ND	ND	ND

SU– Sin Unión

ND – No Determinado

* Se utiliza CEACAM5 (K398)

Las CEACAM5 TriNKET se unen a distintos dominios de CEACAM5 humana

[0403] Para determinar a qué dominio(s) de la proteína hCEACAM5 se unen las TriNKET, se realizaron diferentes formatos de ensayo dependiendo de si el dominio de la proteína tenía una etiqueta de His o era una fusión de Fc. Si el dominio de la proteína era una fusión de Fc, AB0411, AB0466, AB0264 o AB0621 se capturaron utilizando un anticuerpo anti-Fab humano (Cytiva, n.º 28958325) inmovilizado en una microplaca CM5. Los diversos dominios de la proteína hCEACAM5 (extremo N, A1-B1, A2, B2, A3 o B3) se titularon sobre las TriNKET capturadas a 50 µl/min durante 180 segundos de asociación y 300 segundos de disociación. El ensayo se realizó a 25 °C en tampón de ejecución HBS-EP+, pH 7,4. La superficie de la microplaca CM5 se regeneró utilizando 10 ml de glicina a un pH de 2,1.

[0404] Si el dominio de la proteína tenía una etiqueta de His, AB0411, AB0466, AB0264 o AB0621 se capturaron utilizando un anticuerpo anti-Fc humano (Cytiva) inmovilizado en una microplaca CM5. Los diversos dominios de la proteína hCEACAM5 se titularon sobre el anticuerpo capturado a 50 µl/min durante 180 segundos de asociación y 300 segundos de disociación. El ensayo se realizó a 37 °C en tampón de ejecución HBS-EP+, pH 7,4. La superficie de la microplaca CM5 se regeneró utilizando MgCl₂ 3 M.

[0405] Los resultados mostraron que las TriNKET se unieron solo al dominio A1-B1, en consonancia con los datos de mapeo de epítomos por espectrometría de masas de intercambio de hidrógeno-deuterio (HDX-MS) (no mostrado). La afinidad por el dominio A1-B1 es comparable a la del ectodominio de CEACAM5 de ser humano. Ninguna de las TriNKET mostró unión con el dominio A2-B2 o A3-B3. Los resultados de los ensayos de unión a domino se muestran en la Tabla 17.

Tabla 17. Ensayos de unión a dominio de la proteína CEACAM5 humana

			AB0411		
	Formato		ka (1/Ms)	kd (1/M)	KD (M)
CEACAM5 Nterm IgV-His	hFc capt	37°C	1,4E+06	4,2E-04	3,1E-10
CEACAM5 N-A1-B1-His	hFc capt	37°C	3,6E+05	4,3E-04	1,2E-09
CEACAM5 N-A1-B1-His	Fab capt	25°C	3,0E+05	2,8E-04	9,5E-10
CEACAM5 A1-B1-Fc	Fab capt	25°C			
			AB0466		
			ka (1/Ms)	kd (1/M)	KD (M)
CEACAM5 Nterm IgV-His	hFc capt	37°C	1,1E+06	1,5E-03	1,4E-09
CEACAM5 N-A1-B1-His	hFc capt	37°C	2,4E+05	1,3E-03	5,5E-09
CEACAM5 N-A1-B1-His	Fab capt	25°C	2,8E+05	5,8E-04	2,1E-09
CEACAM5 A1-B1-Fc	Fab capt	25°C			
			AB0621		

			ka (1/Ms)	kd (1/M)	KD (M)
CEACAM5 Nterm IgV-His	hFc capt	37°C	SU	SU	SU
CEACAM5 N-A1-B1-His	hFc capt	37°C	1,5E+05	1,7E-03	1,1E-08
CEACAM5 N-A1-B1-His	Fab capt	25°C	3,5E+05	5,9E-04	1,8E-09
CEACAM5 A1-B1-Fc	Fab capt	25°C	2,5E+05	3,6E-04	1,5E-09
AB0264					
			ka (1/Ms)	kd (1/M)	KD (M)
CEACAM5 Nterm IgV-His	hFc capt	37°C			
CEACAM5 N-A1-B1-His	hFc capt	37°C			
CEACAM5 N-A1-B1-His	Fab capt	25°C	4,1E+05	4,5E-04	1,1E-09
CEACAM5 A1-B1-Fc	Fab capt	25°C	2,6E+05	2,7E-04	1,0E-09

Unión de las CEACAM5 TriNKET a los SNP de CEACAM5 de ser humano

[0406] Se identificaron varios polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, *single nucleotide polymorphisms*) destacables de CEACAM5 de ser humano y se produjeron y evaluaron para determinar su unión a AB0411, AB0466 y AB0621 utilizando un ensayo de resonancia de plasmón superficial (SPR) de Biacore desarrollado para el SNP E398 principal de CEACAM5. Para establecer una comparación, se calculó el factor de pérdida de afinidad (KD/KD(Ref)). Como se muestra en la Tabla 18 a continuación, AB0621 mostró una pérdida de afinidad de hasta ~ 2 veces, AB0411 mostró una pérdida de afinidad de hasta ~5 veces y AB0466 mostró una pérdida de afinidad de hasta ~9 veces contra varios SNP.

Tabla 18. Ensayos de unión *in vitro* del dominio hCEACAM5

AB0411				
pH 7,4, 37°C	ka (1/Ms)	kd (1/M)	KD (M)	KD/KD(Ref)
E398 (Ref)	2,7E+05	4,3E-04	1,7E-09	1,0
K398	2,7E+05	3,9E-04	1,4E-09	0,9
I80V V83A I112V I113T	2,6E+05	1,7E-03	6,4E-09	3,9
V83A	1,8E+05	1,5E-03	8,2E-09	4,9
I112V	1,9E+05	3,7E-04	2,0E-09	1,2
I113T	2,1E+05	4,0E-04	1,9E-09	1,1
AB0466				
	ka (1/Ms)	kd (1/M)	KD (M)	KD/KD(Ref)
E398 (Ref)	1,9E+05	1,3E-03	7,2E-09	1,0
K398	2,2E+05	1,4E-03	6,3E-09	0,9
I80V V83A I112V I113T	5,9E+05	3,1E-02	6,1E-08	8,5
V83A	1,4E+05	9,0E-03	6,6E-08	9,3
I112V	1,3E+05	1,5E-03	1,1E-08	1,6
I113T	1,6E+05	1,3E-03	8,4E-09	1,2
AB0621				
	ka (1/Ms)	kd (1/M)	KD (M)	KD/KD(Ref)

E398 (Ref)	1,0E+05	1,7E-03	1,7E-08	1,0
K398	8,6E+04	1,6E-03	1,9E-08	1,1
I80V V83A I112V I113T	6,4E+04	1,4E-03	2,2E-08	1,3
V83A	4,4E+04	1,5E-03	3,4E-08	2,0
I112V	4,2E+04	1,6E-03	3,8E-08	2,3
I113T	4,7E+04	1,4E-03	2,9E-08	1,7

Unión de las CEACAM5 TriNKET a CEACAM1,6,8 de ser humano y de cynomolgus

[0407] La unión a CEACAM1, 6 y 8 de ser humano y de *cynomolgus* se evaluó mediante SPR utilizando el mismo protocolo que para CEACAM5 pero utilizando hasta 600 y 1200 nM para la titulación de cada proteína. No hubo señales de unión detectables a estas concentraciones para AB0621. En cambio, se detectaron señales de unión débiles y reproducibles para AB0411 y AB0466, pero estas dos TriNKET también se unieron a uno o más epítomos diferentes en el extremo N de CEACAM5. Los sensogramas de unión débil habituales para AB0411 y AB0466 frente a CEACAM1 y 6 de ser humano indicaron señales débiles pero destacables en comparación con AB0621. Las aproximaciones en estado estacionario no alcanzaron una concentración lo suficientemente alta como para aproximarse a la saturación y poder realizar determinaciones fiables del KD, pero es probable que las estimaciones del KD sean valores superiores a aproximadamente la mitad de las concentraciones máximas de analito utilizadas. Los resultados de los ensayos de unión a CEACAM1, 6 y 8 se muestran en la Tabla 19.

Tabla 19. Ensayos de unión a CEACAM1,6,8

pH 7,4, 37°C	AB0411	AB0466	AB0621	AB0264
CEACAM1 humana	Débil	Débil	SU	SU
CEACAM6 humana	Débil	SU	SU	SU
CEACAM8 humana	Débil			
CEACAM1 Cyno	Débil		SU	
CEACAM6 Cyno	SU		SU	
CEACAM8 Cyno	SU		SU	

Unión concomitante a las proteínas diana CEACAM5, NKG2D y CD16

[0408] La unión concomitante de los tres brazos de AB0264 (que difiere de AB0621 solo en que tiene una prolina en lugar de una serina en la posición 77), se demostró utilizando SPR en una microplaca CM5 inmovilizada con CEACAM5 de ser humano. Esta superficie se utilizó primero para capturar de manera estable AB0264 en la superficie de la microplaca. Las **FIG. 35A** y **FIG. 35B** demuestran que las inyecciones posteriores de niveles de saturación (2 µM) de CD16A (V158/V176) solo, seguido de una premezcla de CD16A 2 µM y NKG2D-His 2 µM

demonstraron una señal de unión escalonada indicativa de la formación de un complejo heterotetramérico en la superficie de la microplaca. La proporción de señales de unión (que son proporcionales a los PM) fue de aproximadamente 5:1:1, lo que está en consonancia con una estequiometría molar 1:1:1 de complejo unido en la superficie de CEACAM5.

Unión a NKG2D a un pH de 7,4 y 6,0

[0409] La unión a NKG2D se evaluó mediante SPR utilizando un kit de captura de Fc de ratón (Cytiva, n.º BR100838) inmovilizado en una microplaca CM5. La NKG2D de ser humano y de cynomolgus fusionada con un Fc de ratón se capturó y las AB0411, AB0466 o AB0621 se titularon desde 600 nM. Los resultados que se muestran en la Tabla 20 a continuación demuestran afinidades comparables para las tres TriNKET frente a NKG2D de ser humano y cyno.

Tabla 20. Ensayos de unión a NKG2D

	37°C	NKG2D-mFc			NKG2D-mFc Cyno		
AB0411	pH 7,4	2,5E+05	1,2E-01	4,9E-07	2,6E+05	1,5E-01	5,9E-07
	pH 6,0	2,8E+05	1,3E-01	4,9E-07	2,7E+05	1,4E-01	5,0E-07
AB0466	pH 7,4	2,4E+05	1,6E-01	6,8E-07	2,3E+05	1,8E-01	7,5E-07
	pH 6,0	2,4E+05	1,2E-01	4,8E-07	3,1E+05	1,1E-01	4,2E-07
AB0621	pH 7,4	3,2E+05	1,4E-01	5,7E-07	3,2E+05	1,2E-01	5,2E-07
	pH 6,0	2,4E+05	5,6E-02	2,4E-07	1,5E+05	4,5E-02	3,0E-07

Unión a CD16A (FcγR3a)

[0410] La unión a CD16A de ser humano y de *cynomolgus* se evaluó utilizando CD16A biotinilado capturado en una microplaca detectora con estreptavidina (SA) (Cytiva, n.º BR100531). AB0411, AB0466 o AB0621 se tituló desde 1500 nM a 25 °C a 30 µl/min durante 150 segundos de asociación seguido de 300 segundos de disociación. La superficie de la microplaca se regeneró con hidróxido de sodio 2 mM durante 5 segundos a 30 µl/min. El tampón de ejecución fue HBS-EP+. Como se muestra en la Tabla 21 a continuación, las afinidades fueron comparables entre todas las TriNKET. Como se esperaba, la isoforma V158 se unió de ~2 a 3 veces más fuertemente que la isoforma F158. FcγRIIIA de cyno mostró una unión ligeramente más fuerte que FcγRIIIA V158 de ser humano.

Tabla 21. Ensayos de unión a CD16A (FcγR3a)

	25°C	FcγRIIIA V158		
AB0411	pH 7,4	2,3E+05	2,9E-02	1,2E-07
	pH 6,0	8,3E+05	2,9E-02	3,6E-08

AB0466	pH 7,4	3,0E+05	7,8E-02	2,6E-07
	pH 6,0	8,2E+05	3,8E-02	4,7E-08
AB0621	pH 7,4	2,6E+05	7,2E-02	2,8E-07
	pH 6,0	6,9E+05	4,0E-02	5,8E-08
	25°C	FcγRIIA F158		
AB0411	pH 7,4	2,2E+05	8,6E-02	3,7E-07
	pH 6,0	ND	ND	ND
AB0466	pH 7,4	3,1E+05	2,1E-01	6,9E-07
	pH 6,0	ND	ND	ND
AB0621	pH 7,4	3,0E+05	1,9E-01	6,4E-07
	pH 6,0	ND	ND	ND
	25°C	FcγRIIA cyno		
AB0411	pH 7,4	7,3E+05	7,5E-02	1,0E-07
	pH 6,0	8,9E+08	1,3E+01	1,6E-08
AB0466	pH 7,4	7,9E+05	1,1E-01	1,4E-07
	pH 6,0	2,4E+06	4,7E-02	1,9E-08
AB0621	pH 7,4	7,2E+05	1,1E-01	1,6E-07
	pH 6,0	9,7E+08	2,2E+01	2,5E-08

Unión de AB0621 a FcγR humanos, excluyendo CD16a (FcγR3a)

[0411] AB0621 se capturó sobre una microplaca con Proteína A (Cytiva, n.º 29127556). Los FcγR humanos se titularon sobre AB0621 capturado como diluciones en serie con factor 3 a partir de 300 nM para FcγRI, 1000 nM para FcγRIIA R131 y H131 y 3000 nM para FcγRIIB y FcγRIIIB. La asociación se controló durante 120 segundos y la disociación durante 180 segundos. Los ensayos se realizaron a 25 °C a un pH de 7,4. La superficie de la microplaca se regeneró con glicina 10 mM pH 1,5 durante 20 segundos a 30 µl/min. Los resultados que se muestran en la Tabla 22 demuestran que AB0621 se une a los FcγR con afinidades comparables a las de un anticuerpo IgG1 habitual.

Tabla 22. Ensayos de unión a los FcγR

AB0621, pH 7,4, 25°C	ka (1/Ms)	kd (1/M)	KD (M)	KD/KD ref
FcγRI	2,6E+06	3,6E-02	1,4E-08	0,64
FcγRIIA H131	--	--	6,0E-07	0,68
FcγRIIA R131	--	--	3,3E-07	0,68
FcγRIIB	--	--	3,3E-06	0,94
FcγRIIIB	--	--	sin unión	n/d

Unión de Ab0621 al FcRn humano

[0412] El anticuerpo anti cadena ligera kappa se inmovilizó en una microplaca CM5

siguiendo un protocolo estándar de acoplamiento de amina. Se capturó AB0621 en la microplaca y el FcRn de ser humano o de *cynomolgus* se tituló desde 2000 nM como diluciones en serie con factor 2. La asociación se controló durante 120 segundos y la disociación durante 180 segundos. Los ensayos se realizaron a 25 °C a un pH de 7,4 y de 6,0. La superficie de la microplaca se regeneró con dos pulsos de glicina 10 mM pH 1,5 durante 20 segundos a 30 µl/min seguido de NaOH 10 mM durante 20 segundos a 30 µl/min.

[0413] Los resultados mostrados en la Tabla 23 demuestran que AB0621 se une tanto al FcRn de ser humano como de *cynomolgus* a un pH de 6,0 con afinidades comparables, y que como era de esperar, AB0621 no se une ni al FcRn de ser humano ni al de *cynomolgus* a un pH de 7,4.

Tabla 23. Ensayos de unión a FcRn

AB0621, 25°C	pH	KD (M)
FcRn humano	pH 6,0	4,4E-07
	pH 7,4	sin unión
FcRn cyno	pH 6,0	3,1E-07
	pH 7,4	sin unión

Ejemplo 14. Ensayos de unión celular a CEACAM5 TriNKET

Cuantificación de moléculas CEACAM5 de la superficie celular mediante citometría de flujo

[0414] Se diluyeron varias líneas celulares de cáncer en tampón FACS y para la tinción FACS, se sembraron 200.000 células de cada tipo de célula por pocillo por duplicado en una placa de 96 pocillos. Una variante Fc murina monovalente del anticuerpo anti-CEACAM5, labetuzumab, se diluyó a 200 nM en tampón FACS y se utilizó para resuspender las células. La placa se incubó a 4 °C durante 120 minutos, se lavó con tampón FACS y se resuspendió con el reactivo de detección secundario del kit de cuantificación de receptores disponible en el comercio en QIFIKIT de Agilent. El reactivo de detección FITC-anticuerpo secundario murino se diluyó a 1:50 en tampón FACS y se incubó en las células a 4 °C durante 60 minutos. Las perlas de calibración se lavaron con tampón FACS, se resuspendieron con el reactivo de detección FITC-anticuerpo murino preparado para las células, y se incubó a 4 °C durante 60 minutos.

[0415] Las células y las perlas se lavaron con tampón FACS, se resuspendieron con 70 µl de tampón de fijación y se incubaron a 4 °C durante 20 minutos. Las células y las perlas se lavaron nuevamente con tampón FACS y los datos se adquirieron utilizando el citómetro de flujo Attune NxT de Thermo Fisher. Las células de interés se identificaron utilizando el gráfico FSC frente a SSC, y alrededor de las células se trazó una ventana de selección con la forma adecuada. En las

células seleccionadas, los acontecimiento de doblete se eliminaron viendo el gráfico FSC-H frente a FSC-A. En la población de células disociadas, se seleccionaron células vivas. En la selección de células vivas, se obtuvo la IFM de cada muestra. La IFM de las células y las perlas de calibración se sustrajo del fondo utilizando pocillos que solo contenían reactivo de detección secundario y se transformó en $\log(\text{IFM})$. El $\log(\text{IFM})$ de las perlas de calibración se representó gráficamente frente al $\log(\text{número de receptor})$, según lo proporcionado por el fabricante) y se ajustó con regresión lineal utilizando el programa GraphPad Prism. Después, se utilizó el $\log(\text{IFM})$ de las células para interpolar el $\log(\text{número de receptor})$ de las células; estos datos se notifican como capacidad de unión del anticuerpo (CUA) o como anticuerpos unidos por célula. Se observó una amplia gama de expresión en las líneas de células de cáncer, observándose el mayor número de moléculas CEACAM5 por célula en células MKN-45, como se muestra en la tabla 24.

Tabla 24. Número de moléculas CEACAM5 por célula

Línea Celular	Superficie celular de CEACAM5
MKN-45	460,335
SK-CO-1	118,984
ZR-75-30	80,569
HPAF-II	63,997
LS-174T	44,027
LoVo	35,055
BxPC-3	21,691
Kato-III	12,638
AsPC-1	8,503
HT-29	660

Cuantificación de la unión de las TriNKET a CEACAM5 en líneas de células tumorales

[0416] Las líneas celulares de cáncer humano MKN-45 y HPAF-II se diluyeron en tampón FACS y se sembraron 100.000 células de cada tipo de célula por pocillo por duplicado en placas de 96 pocillos para la tinción FACS. Las células se lavaron con PBS, se incubaron en una dilución 1:2000 de colorante para detectar células vivas/muertas en PBS durante 15 minutos y después se lavaron con tampón FACS. AB0264, AB0411, AB0466 y AB0621 se diluyeron en tampón FACS y se añadieron a las células 50 μl de cada TriNKET diluida. Después de incubar en hielo durante 30-120 minutos, las células se lavaron dos veces con tampón FACS. Se diluyó anticuerpo secundario anti-Fc de IgG humana en tampón FACS y para la detección de las TriNKET unidas se añadieron 50 μl por pocillo. Las células se incubaron durante 30-60 minutos en hielo y después se lavaron con tampón FACS. Se añadieron 50 μl de tampón de fijación a cada

pocillo y las células se incubaron durante 10 minutos a temperatura ambiente. Las células se lavaron con tampón FACS y se resuspendieron en tampón FACS para el análisis con ThermoFisher Attune NxT, BD FACS Celesta SN n.º H66034400085 o BD FACS Celesta SN n.º H66034400160.

[0417] Las células de interés se identificaron utilizando un gráfico de FSC frente a SSC y alrededor de las células se trazó una ventana de selección con la forma adecuada. En las células seleccionadas, las células doblete se eliminaron viendo el gráfico FSC-H frente a FSC-A. En la población de células disociadas, se seleccionaron células vivas. En la selección de células vivas, se calculó la intensidad de fluorescencia media (IFM) de cada muestra y el control secundario solamente. El incremento sobre el fondo (FOB) se calculó como la relación entre la IFM del artículo de prueba y la IFM de fondo solo secundaria. Los datos se ajustaron a una curva de regresión no lineal de cuatro parámetros utilizando GraphPad Prism 7.0.

[0418] En la Tabla 25 se muestra la fuerza de unión (CE_{50}) y la carga máxima (FOB máx.) de las TriNKET CEACAM5 a las líneas celulares de cáncer humano MKN-45 y HPAF-II. Para AB0261, la potencia de unión fue similar para MKN-45 y HPAF-II, con valores de CE_{50} de 20,6 nM y 18,1 nM, respectivamente. La carga máxima fue de 51,32 y 24,92 FOB, respectivamente, en consonancia con la expresión alta y moderada de CEACAM5 en estas líneas celulares.

Tabla 25. Valores de CE_{50} y FOB máx de la unión de las TriNKETs a líneas celulares de cáncer humano

Línea Celular	AB0264		AB0621	
	CE_{50} nM	FOB máx	CE_{50} nM	FOB máx
MKN-45	24,6	54,97	20,6	51,32
HPAF-II	20,3	27,95	18,1	24,92
Línea Celular	AB0411		AB0466	
	CE_{50} nM	FOB máx	CE_{50} nM	FOB máx
MKN-45	16,2	119,9	15,2	111,2
HPAF-II	8,36	54,94	7,61	49,01

Comparación de la unión de las TriNKET y los mAb a CEACAM5 en líneas de células tumorales

[0419] Utilizando los métodos descritos anteriormente, la unión de las CEACAM5 TriNKET se comparó con la de sus respectivos anticuerpos monoclonales correspondientes en cinco líneas celulares de cáncer humano (Tabla 26). Las células MKN-45 y SK-CO-1 fueron representativas de niveles más altos de expresión de CEACAM5, mientras que LoVo y BxPC-3 representaron

una expresión media y KATO-III representó una expresión baja de CEACAM5. Se observaron patrones de unión similares en las cinco líneas celulares. AB0264 y AB0411 mostraron valores de CE₅₀ reducidos en comparación con AB0755 y AB0509 respectivamente. AB0755 es un mAb humanizado contra CEACAM5 con la secuencia Fab correspondiente al scFV anti-CEACAM5 presente en AB0264. AB0509 es un mAb humanizado contra CEACAM5 con la secuencia Fab correspondiente al scFV anti-CEACAM5 presente en AB0411. Sin embargo, ambas TriNKET se cargaron sistemáticamente a un FOB Máx. más alto que sus mAb correspondientes.

Tabla 26. Valores de CE₅₀ y FOB máx de las TriNKET y mAb correspondientes

	AB0264		AB0757	
Línea Celular	CE ₅₀ nM	FOB máx	CE ₅₀ nM	FOB máx
MKN-45	20,7	60	4,69	23
SK-CO-1	104	42	5,84	14
LoVo	22,1	14	2,71	7
BxPC-3	30,5	12	3,37	5
Kato-III	13,3	4	1,16	3
	AB0411		AB0509	
Línea Celular	CE ₅₀ nM	FOB máx	CE ₅₀ nM	FOB máx
MKN-45	9,05	107	9,05	107
SK-CO-1	8,67	37	8,67	37
LoVo	3,25	19	3,25	19
BxPC-3	4,28	19	4,28	19
Kato-III	1,17	5	1,17	5

Unión de CEACAM5 TriNKET a células Ba/F3 que expresan proteínas de la familia CEACAM

[0420] Para examinar la especificidad de unión de las TriNKET con CEACAM5 en comparación con otros miembros de la familia CEACAM, células Ba/F3 se genomodificaron para expresar una de CEACAM1, CEACAM6, CEACAM8 de ser humano o CEACAM5 de *cynomolgus*. Las CEACAM5 TriNKET se evaluaron mediante citometría de flujo comenzando a 1600 nM seguido de diluciones en serie con factor 7 5.

[0421] AB0264 y AB0621 se unieron a CEACAM5 de macaco *cynomolgus*, mientras que AB0466 y AB0411 no lo hicieron (**FIG. 36D**). AB0264 y AB0621 no mostraron reacción cruzada con células Ba/F3 que expresaban CEACAM1, CEACAM6 o CEACAM8 de ser humano, (**FIG. 36A-36C**), mientras que tanto AB0411 como AB0466 mostraron reacción cruzada al unirse a células Ba/F3 que expresaban CEACAM1 de ser humano (**FIG 36A**), y

AB0411 también mostró reacción cruzada al unirse a células Ba/F3 que expresaban CEACAM6 humana (**FIG. 36B**). Las CEACAM5 TriNKET no se unieron a las células BA/F3 precursoras que carecían de expresión de proteínas miembro de la familia CEACAM (**FIG. 36E**).

Ejemplo 15. Ensayos de actividad y citotoxicidad basados en células

Aislamiento y preparación de PBMC primarias y células NK

[0422] Se obtuvo sangre humana del banco de sangre de Stanford o de la Biological Specialty Corporation (n.º 225-11-04). La sangre entera de tres macacos *Cynomolgus* se obtuvo en BioIVT (n.º NHP01WBNHUZN). Tanto las PBMC humanas como las de *Cynomolgus* se aislaron mediante centrifugación en gradiente de densidad. Después de la purificación, las PBMC se utilizaron inmediatamente o se congelaron para su uso posterior. Las células NK primarias humanas se purificaron mediante agotamiento negativo utilizando EasySep™ (StemCell, n.º 17955) o RosetteSep™ (StemCell, n.º 15065) siguiendo el protocolo del fabricante. Como alternativa, las células NK congeladas se adquirieron en BioIVT (n.º HUMAN-HL65-U-200429). Antes de su uso en los ensayos, p. ej., en un ensayo DELFIA, las células NK primarias se cultivaron en medio de células primarias RPMI durante la noche.

Transducción de células KHYG-1-CD16V

[0423] Se transdujeron células KHYG-1 (DSMZ, n.º ACC-725) con un retrovirus para expresar la variante 158V de CD16a de ser humano (UniProt P08637). Las células se seleccionaron con puomicina y la población resistente positiva para CD16 de ser humano se confirmó mediante análisis FACS. Las células KHYG-1-CD16V se mantuvieron de forma rutinaria en medio RPMI a una densidad entre $0,2 \times 10^6$ - $1,0 \times 10^6$ /ml en presencia de 10 ng/ml de IL-2 humana recombinante.

Preparación de linfocitos T CD8⁺

[0424] Las PBMC congeladas se descongelaron y estimularon a 37 °C durante 18 horas con 1 µg/ml de ConA en medios de cultivo en matraces de 25 cm² con $20\text{-}25 \times 10^6$ células por 10 ml por matraz. Después, se retiró ConA y las PBMC se cultivaron durante 4 días con 25 unidades/ml de IL-2 en matraces de 25 cm² a 37 °C. Los linfocitos T CD8⁺ se purificaron mediante una técnica de selección negativa con perlas magnéticas (Kit de aislamiento de linfocitos T CD8⁺ humanos EasySep™, StemCell), según las instrucciones del fabricante. Finalmente, los linfocitos T CD8⁺ se cultivaron en medios que contenían 10 ng/ml de IL-15 a 100.000 células/200 µl/pocillo en placas de fondo redondo de 96 pocillos a 37 °C durante 6-10 días antes de su uso, p. ej., en ensayos de citólisis. Los linfocitos T CD8⁺ efectores humanos generados

anteriormente se analizaron mediante citometría de flujo con respecto a la pureza de células CD3⁺CD8⁺ así como de la expresión de NKG2D y CD16. La actividad de los linfocitos T CD8⁺ se midió en el ensayo de citotoxicidad DELFIA descrito a continuación.

Ensayo de citotoxicidad DELFIA

[0425] Las células cancerosas diana que expresan CEACAM-5 se disociaron de los recipientes de cultivo, se sedimentaron, se lavaron con 1 vez con HBS y se resuspendieron a 10⁶ células/ml en medios de cultivo celular previamente calentados. El reactivo BATDA (bis(acetoximetil) 2,2':6',2''-terpiridin-6,6''-dicarboxilato) se diluyó a 1:400 en la suspensión celular. Las células se mezclaron y se incubaron durante 15-20 minutos a 37 °C con CO₂ al 5 %. Las células diana marcadas se lavaron 3 veces con HBS 1x y se resuspendieron en medios de cultivo celular a una concentración final deseada.

[0426] Las células efectoras en reposo, tales como las células NK humanas, KHYG1-CD16V o linfocitos T CD8⁺ activados, se retiraron del cultivo y se sedimentaron, las células se resuspendieron en medios de cultivo celular primario RPMI. Las TriNKET se titularon en medios de cultivo celular primario RPMI. Los ensayos se configuraron en una placa de 96 pocillos TC de fondo redondo con una cantidad deseada de células diana marcadas, células efectoras y las TriNKET.

[0427] Se prepararon pocillos de control para el fondo utilizando 100 µl del sobrenadante de la sedimentación de células diana marcadas y 100 µl adicionales de medio de cultivo celular primario RPMI. Se prepararon pocillos de liberación espontánea añadiendo 100 µl de células diana marcadas a los pocillos que contenían 100 µl de medios de cultivo celular primario RPMI. Los pocillos de liberación máxima se prepararon añadiendo 100 µl de células diana marcadas a pocillos que contenían 80 µl de medios de cultivo celular primario RPMI y 20 µl de solución TritonX-100 al 10 %. La placa de ensayo se incubó durante 2-3 horas a 37 °C con CO₂ al 5 %.

[0428] Al final del ensayo, se extrajeron 20 µl de sobrenadante de cada pocillo y se transfirieron a una placa de ensayo DELFIA transparente de 96 pocillos. Se añadieron 200 µl de solución de europio a cada pocillo y se incubaron adicionalmente a temperatura ambiente durante 15 minutos a 250 RPM en un agitador de placas. Para leer la placa de ensayo, se utilizó un cartucho HTRF en un SpectraMax i3x o Envision®. Se calculó la media de las muestras de fondo y se restó del valor de todos los pocillos de muestra. El cálculo de la lisis específica se realizó utilizando la siguiente fórmula:

[0429] % de lisis específica = (muestra-espontánea)/(máx-espontánea) * 100 %.

Fuerza de las CEACAM5 TriNKET en ensayos de citotoxicidad utilizando células NK y líneas

de células tumorales

[0430] Las células NK humanas se dejaron en reposo durante la noche. Al día siguiente, las células NK en reposo se cocultivaron con células cancerosas diana que expresaban CEACAM5 marcadas con BATDA a una proporción de 10:1 (SK-CO-1) o 5:1 (LS-174T, ZR-75-30 y HPAF-II) para el ensayo DELFIA. Para generar valores de fuerza, los datos se ajustaron a un modelo de regresión no lineal de 4 parámetros.

[0431] En un ensayo DELFIA de corta duración, de 2,5 horas, utilizando células diana SK-CO-1, las CEACAM5 TriNKET suscitaron una lisis eficaz de las células diana mediante células NK primarias en reposo de donantes humanos sanos (**FIG. 37A**). En las **FIG. 37B-37D** se muestran resultados similares para LS-174T, HPAF-II y ZR075-30. Una TriNKET dirigida a RSV (F3'-TriNKET-palivizumab) y un control de isotipo de IgG1 humana (palivizumab-IgG1) dieron como resultado una muerte mínima de células diana, lo que sugiere que el efecto citolítico dependía del acoplamiento del brazo anti-CEACAM5 con las células diana. La concentración de AB0411, AB0466 y AB0621, necesaria para producir la mitad de su destrucción máxima (CE50), fue de 4,55 nM, 9,07 nM y 1,02 nM, respectivamente (**Tabla 27**).

Tabla 27. Fuerza de las CEACAM5 TriNKET en la citólisis de células de cáncer CEACAM5+

TriNKET	SK-CO-1		LS-174T	
	CE ₅₀ (nM)	Destrucción máx (%)	CE ₅₀ (nM)	Destrucción máx (%)
AB0411	4,55	84,0	0,32	28,91
AB0466	9,07	75,1	0,46	20,54
AB0621	1,02	80,9	1,87	42,63
TriNKET	ZR-75-30		HPAF-II	
	CE ₅₀ (nM)	Destrucción máx (%)	CE ₅₀ (nM)	Destrucción máx (%)
AB0411	0,17	25,94	Ajuste pobre	28,28
AB0466	0,80	21,36	0,23	16,49
AB0621	1,58	29,82	0,72	29,79

AB0264 mejora la actividad de las células NK humanas estimuladas con IL-2

[0432] Se caracterizó la capacidad de AB0264 para activar células NK humanas primarias. Las células NK humanas congeladas y purificadas se descongelaron y se dejaron en reposo o se

activaron durante la noche en cultivo con IL-2. Al día siguiente, las células NK se cocultivaron con células diana ZR-75-30 marcadas para el ensayo DELFIA. Se prepararon titulaciones de dosis de AB0264 o AB0755 (un mAb humanizado contra CEACAM5 con secuencia Fab correspondiente a scFV anti-CEACAM5 presente en AB0264) a partir de 50 nM y se añadieron a los cocultivos de células NK humanas en reposo o activadas y células diana ZR-75-30. La lisis específica se representó frente a la concentración y para generar valores de fuerza, los datos se ajustaron a un modelo de regresión no lineal de 4 parámetros.

[0433] Se comparó la lisis de células diana ZR-75-30 por células hNK en reposo y activadas con IL-2 procedentes del mismo donante sano (**FIG. 38**). En la **Tabla 28** se resumen los valores de CE_{50} y de lisis máxima. Las células NK activadas con IL-2 mostraron una destrucción más fuerte de las células cancerosas ZR-75-30 en comparación con las células NK en reposo. Se observó una mayor diferencia en la lisis máxima de las células diana ZR-75-30, donde AB0264 mostró una lisis 4 veces mayor de las células diana con IL-2 activada en comparación con las células NK en reposo.

[0434] Se aplicó el mismo análisis a dos líneas celulares de cáncer humano HPAF-II y LS-174T adicionales que expresaban CEACAM-5. Ambas demostraron una CE_{50} mejorada y una destrucción máxima más alta cuando se utilizaban NK activadas con IL-2 como efector en comparación con células NK en reposo. En la **Tabla 28** se resumen los valores CE_{50} de destrucción y lisis máxima.

Tabla 28. Valores de CE_{50} y de % de lisis máxima de células NK en reposo y activadas frente a líneas celulares de cáncer humano que expresan CEACAM5

TriNKET o mAb de prueba	ZR-75-30			
	NK en reposo		NK activadas	
	CE_{50} (nM)	Destrucción máx (%)	CE_{50} (nM)	Destrucción máx (%)
AB0264	1,12	11	0,96	45
AB0755	ND	ND	ND	ND
TriNKET o mAb de prueba	HPAF-II			
	NK en reposo		NK activadas	
	CE_{50} (nM)	Destrucción máx (%)	CE_{50} (nM)	Destrucción máx (%)
AB0264	0,78	13	0,05	52
AB0755	0,93	6	0,12	44
TriNKET o mAb de prueba	LS-174T			
	NK en reposo		NK activadas	
	CE_{50} (nM)	Destrucción máx (%)	CE_{50} (nM)	Destrucción máx (%)
AB0264	1,33	26	0,07	74

AB0755	0,03	11,6	0,04	62
--------	------	------	------	----

ND= No determinado

Las TriNKET demuestran una mayor actividad citolítica en comparación con los mAb correspondientes

[0435] La capacidad de las CEACAM-TriNKET, AB0264 y AB0411, para causar la lisis de células cancerosas humanas que expresan CEACAM5, se comparó con la de AB0755 y AB0509 respectivamente utilizando un ensayo de citotoxicidad de células NK primarias de corta duración. AB0755 es un mAb humanizado contra CEACAM5 con la secuencia Fab correspondiente al scFV anti-CEACAM5 presente en AB0264. AB0509 es un mAb humanizado contra CEACAM5 con la secuencia Fab correspondiente al scFV anti-CEACAM5 presente en AB0411. Las células NK humanas purificadas se descongelaron y se dejaron en reposo durante la noche. Al día siguiente, para el ensayo DELFIA, las células NK en reposo se cocultivaron con células diana marcadas (A) MKN-45, (B) SK-CO-1, (C) LS-174T, (D) ZR-75-30 y (E) HPAF-II. Se prepararon titulaciones de dosis de las TriNKET AB0264 y AB0411 o de su mAb correspondiente a partir de 20 nM y se añadieron a los cocultivos de células NK humanas y células diana. La lisis específica se representó frente a la concentración de cada TriNKET o mAb y los datos se ajustaron a un modelo de regresión no lineal de 4 parámetros para generar valores de fuerza. AB0264 (**FIG. 39A-39E**) y AB0411 (**FIG. 40A-40E**) demostraron una gran fuerza en la destrucción de cinco líneas de células cancerosas y superaron a sus mAb correspondientes. Los resultados se resumen en la Tabla 29.

Tabla 29. Valores de CE₅₀ y % de destrucción máx. de AB0264, AB0411 y de los mAb correspondientes

TriNKET o mAb de prueba	MKN-45		SK-CO-1		ZR-75-30		HPAF-II		LS-	
	CE ₅₀ (nM)	Destrucción máx (%)	CE ₅₀ (nM)	Destrucción máx (%)	CE ₅₀ (nM)	Destrucción máx (%)	CE ₅₀ (nM)	Destrucción máx (%)	CE ₅₀ (nM)	D
AB0264	0,60	39	0,57	44	1,11	16	0,51	32	0,64	
AB0755	ND	14	ND	22	ND	5	1,42	18	ND	
AB0411	0,07	63	0,07	61	0,11	19	0,17	27	0,04	
AB0509	0,43	50	0,26	49	0,72	15	1,41	33	ND	

ND= No determinado

La destrucción mediada por NK de células tumorales que expresan CEACAM5 depende del acoplamiento conjunto de los brazos de unión de TriNKET a CD16, NKG2D e CEACAM5

[0436] Se generaron variantes de AB0264 con mutaciones en sus diferentes brazos de unión. AB0754 es una variante silenciosa de CD16 de AB0264 creada para suprimir la unión de FcγR

mediante la introducción de mutaciones en el dominio CH2. AB0752 es una variante de destrucción de NKG2D con mutación en el brazo de unión a NKG2D. AB0444, una F3'-TriNKET con un scFv basado en palivizumab en lugar del brazo de unión a CEACAM5, se generó para suprimir la unión a CEACAM5 en las células diana.

[0437] Las células KHYG-1-CD16V se dejaron en reposo durante la noche. Al día siguiente, para el ensayo DELFIA, las células KHYG-1-CD16V se cocultivaron con células diana MKN-45 marcadas. Se prepararon titulaciones de dosis de AB0264 o variantes con pérdida de función a partir de 20 nM y se añadieron a los cocultivos de células KHYG-1-CD16V y células diana MKN-45. La lisis específica se representó frente a la concentración y para generar valores de fuerza, los datos se ajustaron a un modelo de regresión no lineal de 4 parámetros.

[0438] En ausencia de unión a células diana, no se observó actividad con AB0444, lo que demostraba la contribución de la unión de CEACAM5 a la lisis de células diana mediada por NK. AB0754 y AB0752 mostraron poca o ninguna actividad, lo que demostraba la importancia adicional de la unión de CD16 y NKG2D a la actividad de destrucción de AB0264 (**FIG. 41**).

Ensayo ELISA de IFN γ

[0439] Las placas de ensayo se prepararon como en el ensayo DELFIA pero con un tiempo de incubación más largo de 48 a 72 horas. Las células NK humanas recién aisladas se dejaron en reposo durante la noche. Al día siguiente, las células NK en reposo se cocultivaron con SK-CO-1 a una proporción de 10:1. Se prepararon titulaciones de dosis de las CEACAM5 TriNKET a partir de una concentración final de 133 nM en una serie de diluciones 1:5. Después de la incubación, las placas de ensayo se centrifugaron brevemente y el IFN γ , presente en los sobrenadantes de los pocillos de ensayo, se cuantificó mediante con kit para hIFN γ de Quantikine® (R&D, n.º SIF50) siguiendo el protocolo del fabricante. Para generar valores de fuerza, los datos se ajustaron a un modelo de regresión no lineal de 4 parámetros. La CE₅₀ y el nivel máximo de liberación de IFN γ se generaron promediando los resultados de tres donantes independientes de NK.

[0440] La capacidad de las CEACAM5 TriNKET para desencadenar la producción de IFN γ en el sistema de cocultivo se evaluó a las 48 horas después del tratamiento. Mientras que palivizumab-TriNKET de control no desencadenó cantidades apreciables de IFN γ , las CEACAM5 TriNKET indujeron una cantidad significativa de IFN γ de una manera dependiente de la dosis (**FIG. 42A**). En la **Tabla 30** se resumen los valores de CE₅₀ y de inducción máxima de IFN γ por las TriNKET.

Tabla 30. CE₅₀ y liberación máxima de IFN γ en NK primarias humanas

TriNKET de prueba	CE ₅₀ (nM)	Liberación máxima de IFN γ (pg/ml)
AB0411	0,24	38,2
AB0466	4,20	24,6
AB0621	4,03	79,3

Ensayos de activación de IFN γ y CD107a

[0441] Las TriNKET o el control de hIgG1 se diluyeron en medios de cultivo. Células de cáncer humano que expresaban CEACAM-5, células NK primarias humanas en reposo o las PBMC, se recogieron del cultivo y se resuspendieron a 1×10^6 células/ml en medios de cultivo. Para el cultivo de activación, a las células NK o a las PBMC, se añadieron hIL-2 recombinante y anticuerpo anti-CD107a conjugado con fluoróforo. Para la tinción de intracelular de citocinas, se diluyeron brefeldin-A (BFA) y monensina en medios de cultivo para bloquear el transporte de proteínas fuera de la célula. Las células tumorales MKN-45 que expresaban CEACAM5 y las células efectoras NK o PBMC primarias se mezclaron a una proporción de 1:1. Las placas de ensayo se cultivaron durante 4 horas para permitir la activación de las células NK antes de que las células se tiñeran y analizaran mediante citometría de flujo. La tinción de CD107a e IFN γ se analizó en poblaciones de CD3⁻CD56⁺ para evaluar la activación de células NK humanas. El porcentaje de células NK IFN γ ⁺CD107⁺ inducidas se representó frente a la concentración y los datos se ajustaron a un modelo de regresión no lineal de 4 parámetros para generar valores de fuerza.

[0442] Después de cuatro horas, un isotipo IgG1 humana mostró escasa inducción de desgranulación basal de CD107a o acumulación de IFN γ intracelular. La adición de AB0264 a los cocultivos dio como resultado una robusta inducción de producción de IFN γ y la desgranulación de CD107a de manera sensible a la dosis (**FIG. 42B**).

[0443] La capacidad de las moléculas CEACAM5 TriNKET para mejorar la activación de las células NK de *Cynomolgus* se evaluó en un ensayo de cocultivo utilizando una línea celular de cáncer humano con PBMC primarias de *Cynomolgus*. El ensayo con PBMC de *Cynomolgus* se preparó de forma similar al ensayo con células humanas descrito anteriormente. Las PBMC de *Cynomolgus* congeladas se descongelaron y se dejaron reposar en medios de cultivo a 37 °C, con CO₂ al 5%. Las líneas celulares de cáncer humano MKN-45 o SK-CO-1 se mezclaron con las PBMC de cyno en reposo a una proporción de célula efectora con respecto a célula diana de 5:1, junto con concentraciones deseadas de las TriNKET o de control de hIgG1. Para el cultivo de activación, a las PBMC, se añadieron BFA, monensina, rhIL-2 y anti-CD107a conjugado con fluoróforo. Durante 4 horas, las placas se cultivaron a 37 °C, con CO₂ al 5 % antes de preparar

las muestras para el análisis de citometría de flujo para medir la desgranulación de CD107a de células NK en el sistema de cocultivo de células tumorales y NK. El porcentaje de células NK CD8⁺ que eran CD107a⁺ se representó frente a la concentración de TriNKET o de control, y los datos se ajustaron a un modelo de regresión no lineal de 4 parámetros para generar valores de fuerza.

[0444] La expresión de *Cyno*-NKG2D se encontró sistemáticamente solo en células NK CD8⁺, a diferencia de las células NK CD8⁻. Por tanto, para definir las células NK CD8⁺ de *cynomolgus*, se aplicó una estrategia de selección utilizando CD45⁺CD14⁻CD20⁻CD3⁻CD8⁺. Todas las CEACAM5-TriNKET probadas mostraron actividad de respuesta a la dosis en la mejora de la desgranulación de células NK CD8⁺ con cada una de las tres muestras de PBMC de *Cynomolgus* probadas (**FIG. 42 C-D**). En cambio, un control de isotipo hIgG1 mostró niveles similares de tinción de CD107a en las muestras no tratadas a todas las concentraciones evaluadas. La Tabla 31 resume las fuerzas y el porcentaje máximo de desgranulación de CD107a desencadenados por las CEACAM-5 TriNKET en células NK humanas y de *Cynomolgus*.

Tabla 31. Valores de CE₅₀ y máximos de desgranulación de CD107a de células NK frente a células de cáncer CEACAM5⁺

TriNKET de prueba	PBMC humanas		PBMC de cyno			
	MKN-45		MKN-45		SK-CO-1	
	CE ₅₀ (nM)	% Máx. CD107a	CE ₅₀ (nM)	% máx. CD107a	CE ₅₀ (nM)	% Máx. CD107a
AB0264	0,16	20,67	0,48	13,2	0,61	16,05
AB0411	0,17	25,33	0,26	11,49	0,47	17,40
AB0466	0,31	19,99	1,54	13,76	0,87	14,44

Fuerza en el ensayo de destrucción de corta duración utilizando células NK humanas primarias en reposo y líneas organoides de tumor de pulmón primario procedentes de pacientes

[0445] NSCLC 10910 y NSCLC 3222 eran dos líneas organoides tumorales procedentes de pacientes con cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC, siglas del inglés) primario. El análisis de citometría de flujo con mAb anti-CEACAM5 (labetuzumab) no conjugado y un anticuerpo secundario conjugado con PE, demostró la expresión en superficie de CEACAM5 en estas dos líneas a un nivel mucho más bajo en comparación con SK-CO-1 (**FIG. 43A**). El ensayo DELFIA de corta duración se utilizó para cuantificar la capacidad de las CEACAM5 TriNKET para desencadenar la citólisis mediada por NK de estas dos líneas organoides de NSCLC primario.

Las células NK humanas recién aisladas se dejaron en reposo durante la noche. Al día siguiente, las células NK en reposo se cocultivaron con NSCLC 10910 o NSCLC3222 a una proporción de 10:1. Se prepararon titulaciones de dosis de las TriNKET y moléculas de control a partir de una concentración final de 133 nM en una serie de diluciones de 1:5. Para generar valores de fuerza, los datos se ajustaron a un modelo de regresión no lineal de 4 parámetros. A pesar de la diferencia en los niveles de expresión de CEACAM5, las células NK primarias humanas desencadenaron una fuerte lisis de células tumorales en ambas líneas (**FIG. 43B-C, Tabla 32**).

Tabla 32. Valores de CE₅₀ y de % de lisis máxima de células NK en reposo contra líneas organoides primarias de cáncer humano que expresan CEACAM5

TriNKET de prueba	NSCLC 3222		NSCLC 10910	
	CE ₅₀ (nM)	Destrucción máx (%)	CE ₅₀ (nM)	Destrucción máx (%)
AB0411	0,61	75,25	4,34	78,16
AB0466	1,52	43,62	1,29	47,17
AB0621	5,15	57,92	3,71	55,64

Fuerza en el ensayo de destrucción de corta duración utilizando linfocitos T CD8⁺ activados y MKN45

Por encima de las células NK, NKG2D también se expresa en linfocitos T citotóxicos. Los linfocitos T CD8⁺ activados pueden desencadenarse directamente mediante la estimulación de NKG2D. Se generaron células CD8 estimuladas con citocinas utilizando un esquema ilustrado en la **FIG. 44A**. Las células T CD8⁺ humanas activadas *in vitro* se cocultivaron con células MKN-45 a una relación E:T de 20:1. La lisis específica se representó frente a la concentración y para generar valores de fuerza, los datos se ajustaron a un modelo de regresión no lineal de 4 parámetros. Los linfocitos T activados no mostraron lisis basal de las células diana. Ni el adicional del mAb correspondiente ni la variante silenciosa de NKG2D, que no pueden actuar como agonistas de NKG2D, mostraron ningún desencadenamiento de la actividad de los linfocitos T. En cambio, AB0264 mostró una inducción dependiente de la dosis en la citólisis mediada por linfocitos T CD8⁺ de células diana MKN-45 (**FIG. 44B**).

Ejemplo 16. Actividad antitumoral del mAB0621 TriNKET sustituto de ratón en ratones hCEACAM5 Tg (transgénicos) con tumores B16F10-hCEACAM5

Ratones transgénicos

[0446] Los ratones B6.Cg-Tg(hCEACAM5)2682Wzm/Ieg expresan CEACAM5 humano bajo el control del promotor CEACAM5 humano (Eades-Perner, 1994). Se obtuvieron ratones heterocigotos hembra de aproximadamente 7 a 12 semanas de vida que pesaban en promedio 21,7 g de una colonia reproductora mantenida en el Laboratorio Taconic (Germantown, NY). Estos ratones contienen aproximadamente 2,5 copias por genoma haploide de un inserto de clon de cósmido de 33 kb que contiene el gen CEACAM5 humano completo y secuencias flanqueantes, basado en una reevaluación reciente del número de copias mediante PCR cuantitativa.

[0447] La distribución de la expresión de CEACAM5 de ser en estos ratones es comparable a la de los seres humanos, con bajo nivel de ARNm detectado en el colon, íleon, ciego y estómago. Se observó expresión de la proteína CEACAM5 de ser humano en todo el grosor de la mucosa del colon de ratones transgénicos hCEACAM5, teniendo la mayor parte de las células epiteliales colónicas tinción positiva. En comparación, la expresión de CEACAM5 en el colon humano se observa principalmente localizada en la mucosa superior, particularmente a lo largo de la superficie luminal.

Reactivos y formulaciones de anticuerpos

[0448] Una TriNKET duobody substitutiva de ratón, denominada mAB0621, se generó con el brazo anti-Fab de CEACAM5 de ser humano de la molécula TriNKET humana AB0621 integrada en un anticuerpo heterodimérico (duobody) con un clon 13 de proteína de unión NKG2D anti-ratón de ratón que forma el segundo brazo Fab que se une al isotipo IgG2a de ratón. Para formar la molécula biespecífica TriNKET duobody, se utilizaron mutaciones de Genmab DuoBodies en los dominios CH3 de la IgG2a de ratón. De manera similar, se creó una TriNKET duobody substitutiva de ratón de control de isotipo utilizando la secuencia anti-Fab de RSV humano Synagis en lugar del Fab de AB0621. Las TriNKET duobody substitutivas de ratón se produjeron mediante líneas celulares recombinantes, formuladas en acetato de sodio (Na) 20 mM, sacarosa al 9 %, pH 5,5, y se conservaron como reservas congeladas (-80 °C).

Generación de líneas celulares tumorales

[0449] La línea celular de tumor de melanoma de ratón B16F10 se genomodificó para expresar de forma estable hCEACAM5 humana utilizando un vector retrovítico pRG-RV 2-5 sin selección. Mediante IHQ se confirmó que el clon 7-2B11 de B16F10-hCEACAM5 expresaba altos niveles de hCEACAM5 en tumores desarrollados por vía subcutánea (SC) en ratones y los ratones portadores de tumores tenían niveles elevados de CEACAM5 soluble en su suero. La unión de mAB0621 a la línea celular hCEACAM5-B16F10 se evaluó mediante citometría de

flujo. mAB0621 mostró un valor de CE_{50} de 21,8 nM.

Preparación e implante de la línea celular tumoral

[0450] Células B16F10-hCEACAM5 clon 7-2B11 de una reserva congelada se mantuvieron *in vitro* como un cultivo de monocapa en medio DMEM complementado con suero bovino fetal (FBS) al 10 % termoinactivado, 1X Glutamina y 1X MEM aminoácidos no esenciales a 37 °C en una atmósfera de CO₂ al 5 % en aire. Se recogieron y lavaron las células que crecían en una fase de crecimiento exponencial con una confluencia del 80 %. En el costado derecho dorsal de cada ratón, se inyectaron por vía subcutánea (s.c.) $1,5 \times 10^6$ células en un volumen de 100 µl de medio basal DMEM.

Mediciones de los tumores y del peso corporal

[0451] Los tumores se midieron el día antes de la primera dosis y dos veces por semana a partir de entonces. La longitud y la anchura del tumor se midieron utilizando calibradores electrónicos y el volumen tumoral se determinó utilizando la fórmula $Volumen (mm^3) = 0,5 \times Longitud \times Anchura^2$ donde la longitud es la dimensión más larga. Los ratones se pesaron periódicamente para controlar su salud general. Antes del tratamiento, los ratones se pesaron y se midieron los tumores de ratones individuales. Para evitar el sesgo, se eliminaron todos los valores atípicos por peso o volumen tumoral y los ratones restantes se distribuyeron en grupos de tratamiento con un tamaño tumoral medio equivalente. La dosificación comenzó cuando el volumen tumoral medio en los ratones con tumor B16F10-hCEACAM5 alcanzó $\sim 104 mm^3$ (intervalo de 80-120 mm^3), 8 días después del implante. Los animales recibieron una administración de las TriNKET duobody como se describe a continuación.

Preparación, administración y análisis de la solución de dosificación

[0452] Reservas congeladas de las TriNKET duobody que se probarán en el modelo animal se descongelaron y se transfirieron a hielo. La solución madre de cada TriNKET duobody se diluyó a la concentración nominal en el diluyente apropiado y se dosificó inmediatamente. A ratones hCEACAM5-Tg con tumor B16F10-hCEACAM5 se les administró TriNKET duobody mAB0621 o TriNKET duobody de control de isotipo a una dosis de 15, 5, 1,5 o 0,5 mg/kg, por vía subcutánea (s.c.), cada 3-4 días durante un total de 6 dosis. Cada grupo de tratamiento incluía 15 animales. Después de la dosificación, los animales se siguieron controlando y los volúmenes de los tumores se midieron dos veces por semana. La actividad antitumoral de mAB0621 se evaluó mediante dos parámetros; el porcentaje de animales restantes el día 26 después del tratamiento con mAB0621 determinado por un análisis de Kaplan-Meier, y la medición del volumen tumoral después de la asignación de grupos. El análisis estadístico se realizó el día 26

utilizando la prueba del orden logarítmico (*: $p < 0,05$, ***: $p < 0,001$, ****: $p < 0,0001$; n.s. = no significativo).

[0453] En la **FIG. 45** se muestran las curvas de Kaplan-Meier que evalúan el porcentaje de animales restantes a lo largo del tiempo. Los animales con un tumor que superase un volumen de 2000 mm^3 se sacrificaron. El día 26, el número de animales restantes fue significativamente mayor en los ratones tratados con mAB0621 a 15 mg/kg ($p < 0,0001$), a 5 mg/kg ($p = 0,0004$) y a $1,5 \text{ mg/kg}$ ($p = 0,0274$) en comparación con el grupo de control de isotipo.

[0454] En la **FIG. 46** se muestran los volúmenes tumorales B16F10-hCEACAM5 individuales medidos para cada animal en los cinco grupos de tratamiento. Los volúmenes tumorales se midieron dos veces por semana. Las comparaciones de los volúmenes tumorales entre los diferentes grupos de tratamiento se realizaron conjuntamente en todos los puntos temporales utilizando el área bajo la curva (ABC) como medida resumida de cada tumor. La diferencia entre dos grupos de tratamiento se evaluó mediante la prueba no paramétrica de tipo Wilcoxon para curvas de crecimiento bajo censura dependiente por la derecha propuesta por Vardi *et al.*, 2001.

[0455] Se muestran las curvas individuales de los volúmenes tumorales de ratones con tumor B16F10-hCEACAM5 en el modelo transgénico hCEACAM5 después de la administración del control de isotipo a 15 mg/kg (**FIG. 46A**) o del mAB0621 a 15 mg/kg (**FIG. 46B**), 5 mg/kg (**FIG. 46C**), $1,5 \text{ mg/kg}$ (**FIG. 46D**) o $0,5 \text{ mg/kg}$ (**FIG. 46E**) hasta el día 26. En comparación con el grupo de control, se observó una regresión tumoral estadísticamente significativa en los diferentes grupos tratados con mAB0621 a 15 mg/kg ($p = 0,00050$) y a 5 mg/kg ($p = 0,00145$) y a $0,5 \text{ mg/kg}$ ($p = 0,02870$). El grupo tratado con $1,5 \text{ mg/kg}$ de mAB0261 no mostró regresión tumoral significativa ($p = 0,07865$). El día 26, se observaron regresiones tumorales completas (RC) en los grupos de tratamiento con 5 mg/kg (4 ratones) y 15 mg/kg (2 ratones) de mAB0621.

Ejemplo 17. Actividad antitumoral del TriNKET mAB0621 sustituto de ratón junto con anticuerpo anti-PD-1 en ratones hCEACAM5 Tg con tumores B16F10-hCEACAM5

Ratones transgénicos

[0456] Los ratones B6.Cg-Tg(hCEACAM5)2682Wzm/Ieg se describen en el Ejemplo 16. Se obtuvieron ratones heterocigotos hembra de aproximadamente 8 a 12 semanas de vida que pesaban en promedio $23,2 \text{ g}$ de una colonia reproductora mantenida en el Laboratorio Taconic (Germantown, NY).

Reactivos y formulaciones de anticuerpos

[0457] La TriNKET duobody sustitutiva de ratón mAB0621 y la TriNKET de control de isotipo se describieron en el Ejemplo 16. Las TriNKET duobody sustitutivas de ratón y el anticuerpo de IgG1 de ratón anti-PD-1 murino (muDX400), se produjeron mediante líneas celulares recombinantes, formuladas en acetato de sodio (Na) 20 mM, sacarosa al 9 %, pH 5,5, y se conservaron como reservas congeladas (-80 °C).

Líneas de células tumorales, preparación e implantación

[0458] El B16F10-hCEACAM5 clon 7-2B11, así como el cultivo, la preparación y la inyección de estas células en los ratones, fueron como se describe en el Ejemplo 16.

Mediciones de los tumores y de los pesos corporales

[0459] Los tumores se midieron el día antes de la primera dosis y dos veces por semana a partir de entonces. La longitud y la anchura del tumor se midieron utilizando calibradores electrónicos y el volumen tumoral se determinó utilizando la fórmula $\text{Volumen (mm}^3\text{)} = 0,5 \times \text{Longitud} \times \text{Anchura}^2$ donde la longitud es la dimensión más larga. Los ratones se pesaron periódicamente para controlar su salud general. Antes del tratamiento, los ratones se pesaron y se midieron los tumores de ratones individuales. Para evitar el sesgo, se eliminaron todos los valores atípicos por peso o volumen tumoral y los ratones restantes se distribuyeron en grupos de tratamiento con un tamaño tumoral medio equivalente. La dosificación comenzó cuando el volumen tumoral medio en los ratones con tumor B16F10-hCEACAM5 alcanzó $\sim 237 \text{ mm}^3$ (intervalo de 220-270 mm^3), 7 días después del implante. Los animales recibieron una administración de las TriNKET duobody como se describe a continuación.

Preparación y administración de la solución de dosificación

[0460] Reservas congeladas de las TriNKET duobody o del anticuerpo anti-PD-1 muDX400 que se probarán en el modelo animal se descongelaron y se transfirieron a hielo. La solución madre de cada TriNKET duobody se diluyó a la concentración nominal en el diluyente apropiado y se dosificó inmediatamente.

Dosificación y resultados

[0461] A ratones hCEACAM5-Tg con tumor B16F10-hCEACAM5 se les administraron dosis de 5 mg/kg de anticuerpos de isotipo de control o mAB0621 o anti-PD1 muDX400 como agentes únicos o como tratamientos combinados, por vía subcutánea (s.c.), cada 3-4 días durante un total de 6 dosis. Cada grupo de tratamiento incluía 15 animales. Después de la dosificación, los animales se siguieron controlando y los volúmenes de los tumores se midieron dos veces por semana. La actividad antitumoral de mAB0621 se evaluó mediante dos parámetros; el porcentaje

de animales restantes el día 37 después del tratamiento determinado por un análisis de Kaplan-Meier, y la medición del volumen tumoral después de la asignación de grupos. El análisis estadístico se realizó el día 37 utilizando la prueba del orden logarítmico.

[0462] En la **FIG. 47** se muestran las curvas de Kaplan-Meier que evalúan el porcentaje de animales restantes a lo largo del tiempo. Los animales con un tumor que superase un volumen de 1800 mm³ se sacrificaron. El día 37, el número de animales restantes fue significativamente mayor en los ratones tratados con la combinación de mAB0621 con anti-PD-1 muDX400 en comparación con los controles de isotipo ($p < 0,0001$) y en comparación con el tratamiento de agente único anti-PD-1 ($p = 0,0356$) y en comparación con el tratamiento con agente único mAB0621 ($p = 0,0368$).

[0463] En la **FIG. 48** se muestran los volúmenes tumorales B16F10-hCEACAM5 individuales medidos para cada animal de los 4 grupos de tratamiento. Los volúmenes tumorales se midieron dos veces por semana. Las comparaciones de los volúmenes tumorales entre los diferentes grupos tratados se realizaron conjuntamente en todos los puntos temporales utilizando el ABC como medida resumida de cada tumor. La diferencia entre dos grupos de tratamiento se evaluó mediante la prueba no paramétrica de tipo Wilcoxon para curvas de crecimiento bajo censura dependiente por la derecha propuesta por Vardi *et al.*, 2001.

[0464] El tratamiento combinado mostró una regresión tumoral estadísticamente significativa en comparación con los controles de isotipo ($p < 0,0001$) y en comparación con los grupos de tratamiento con agente único, mAB0621 ($p = 0,0270$) y anti-PD-1 ($p = 0,00490$) respectivamente. Se muestran las curvas individuales de los volúmenes tumorales de ratones con tumor B16F10-hCEACAM5 en el modelo transgénico hCEACAM5 después de la administración del control de isotipo a 5 mg/mg (**FIG. 48A**) o anti-PD-1 muDX400 a 5 mg/kg (**FIG. 48B**) o mAB0621 a 5 mg/kg (**FIG. 48C**), o combinación de mAB0621 y anti-PD-1 muDX400 a 5 mg/kg (**FIG. 48D**) hasta el día 37. El día 37, se observaron regresiones tumorales completas con el tratamiento combinado mAB0621 con anti-PD-1 (11 ratones), con tratamiento con agente único anti-PD-1 (2 ratones) y con tratamiento con agente único mAB0621 (3 ratones).

Ejemplo 18. Farmacocinética de AB0264 y AB0411 en macacos *Cynomolgus*

[0465] La FC de AB0264 y AB0411 se estudió en macacos *cynomolgus* nultratados con productos biológicos. AB0264 y AB0411 se obtuvieron de una fuente interna como reserva congelada (-80 °C). La noche anterior al día de la dosis, la solución de dosificación se transfirió de -80 °C nominales a 4 °C nominales. Se permitió que la solución de dosificación alcanzara la temperatura ambiente durante al menos 1 hora antes de la administración de la dosis y se invirtió

entre 5 y 10 veces para garantizar que la formulación se mezclara uniformemente antes de transferirla de los tubos a las jeringas.

[0466] La FC de AB0264 se estudió a dosis de 0,1, 1, 10 mg/kg para comprender la disposición del fármaco mediada por la diana debido a su reactividad cruzada con CEACAM5 de cyno. Seis macacos *cynomolgus* se dividieron en tres grupos de dosis con 1 macho y 1 hembra en cada grupo. AB0411 no mostró reacción cruzada con CEACAM5 de macaco *cynomolgus*. Por lo tanto, la FC de AB0411 se estudió a una dosis de 10 g/kg solo con dos hembras y dos machos de macacos *cynomolgus*. El día 0, estos macacos *cynomolgus* recibieron dosis de AB0264 o AB0411 respectivamente a través de administración intravenosa.

[0467] Se recogieron muestras de suero en los puntos temporales indicados hasta 14 días después de la dosificación. Las concentraciones de fármaco se midieron mediante dos ensayos de unión a ligando. El fármaco libre se midió utilizando CEACAM5 recombinante de ser humano y un par de anticuerpos anti-ids del brazo anti-hNKG2D. El fármaco total se midió con el par de anticuerpos anti-Fc de ser humano y anti-IgG de ser humano.

[0468] El perfil FC de concentración con respecto al tiempo del fármaco libre y del fármaco total se representa como concentración promedio en cada grupo frente al tiempo (perfil FC de AB0264 en la **FIG. 49A** y perfil FC de AB0411 en la **FIG. 49B**). Tanto AB0264 como AB0411 mostraron una FC de tipo anticuerpo en macacos *cynomolgus*. Eran estables *in vivo* con exposición similar de fármaco libre y fármaco total a lo largo del estudio. No se observaron diferencias de género en la exposición. Para AB0264, la exposición a suero fue lineal desde dosis de 0,1 mg/kg hasta 10 mg/kg.

Ejemplo 19. Farmacocinética en ratones transgénicos hCEACAM5

[0469] Se estudió la FC de AB0621, AB0411 y AB0466. Para permitir evaluar el impacto de la expresión de CEACAM5 ser humano sobre la FC de TriNKET, se realizaron estudios en el línea de ratón hembra heterocigota B6.Cg-Tg(hCEACAM5)2682Wzm/Ieg descrita en el Ejemplo 16. La solución de dosificación de AB0621, AB0411 y AB0466 se preparó siguiendo el mismo procedimiento descrito anteriormente en los estudios de FC en macaco *cynomolgus*.

[0470] El día 0, los ratones transgénicos hCEACAM5 recibieron dosis de AB0621, AB0411 y AB0466 en dosis de 1 mg/kg y 10 g/kg, respectivamente, a través de administración intravenosa. Se recogieron muestras de suero en los puntos temporales indicados hasta 14 días después de la dosificación. Las concentraciones de fármaco se midieron mediante dos ensayos de unión a ligando. El fármaco libre se midió utilizando CEACAM5 recombinante de ser humano y un par de anticuerpos anti-ids del brazo anti-hNKG2D. El fármaco total se midió con el par de

anticuerpos anti-Fc de ser humano y anti-IgG de ser humano.

[0471] El perfil FC de concentración con respecto al tiempo de AB0621 (**FIG. 50A**), AB0411 (**FIG. 50B**) y AB0466 (**FIG. 50C**) se representa como concentración promedio en cada grupo frente al tiempo. AB0621, AB0411 y AB0466 mostraron un perfil FC de tipo anticuerpo en ratones transgénicos hCEACAM5. La exposición del fármaco total y del fármaco libre de las tres TriNKET probadas se alinearon, lo que indica que son estables *in vivo*. La FC de AB0621 fue lineal desde 1 mg/kg a 10 mg/kg. AB0411 y AB0466 mostraron FC no lineal de 1 mg/kg a 10 mg/kg, probablemente debido a la disposición del fármaco mediada por hCEACAM5 a una dosis de 1 mg/kg.

INCORPORACIÓN POR REFERENCIA

[0472] A menos que se indique lo contrario, la divulgación completa de cada uno de los documentos de patente y artículos científicos a los que se hace referencia en el presente documento se incorpora por referencia a todos los efectos.

EQUIVALENTES

[0473] La invención puede materializarse en otras formas específicas sin apartarse del espíritu o de las características esenciales de la misma. Por lo tanto, las realizaciones anteriores deben considerarse ilustrativas y no limitativas de la invención descrita en el presente documento. El alcance de la invención se indica por tanto en las reivindicaciones adjuntas más que en la descripción anterior, y todos los cambios que entran dentro del significado y el intervalo de equivalencia de las reivindicaciones pretenden incluirse en las mismas.

REIVINDICACIONES

1. Una proteína que comprende:

- (a) un primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D;
- (b) un segundo sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5; y
- (c) un tercer sitio de unión a antígeno, o un dominio Fc de anticuerpo o una parte del mismo, que se une a CD16, en donde:

el segundo sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5 comprende un dominio variable de cadena pesada (VH) que comprende una región determinante de complementariedad (CDR) 1 (CDRH1), CDRH2 y CDRH3, y un dominio variable de cadena ligera (VL) que comprende una CDR 1 (CDL1), CDRL2 y CDRL3, en donde:

- (i) la CDRH1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 3 y 102;
- (ii) la CDRH2 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 37, 104 y 718;
- (iii) la CDRH3 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 6, 38 y 105;
- (iv) la CDRL1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 7, 40 y 107;
- (v) la CDRL2 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 8, 41 y 108; y
- (vi) la CDRL3 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 9, 42 y 109.

2. La proteína de la reivindicación 1, en donde:

- (a) la CDRH1, CDRH2 y CDRH3 del segundo sitio de unión a antígeno son:
 - (i) las SEQ ID NO: 3, 37 y 38, respectivamente;
 - (ii) las SEQ ID NO: 3, 718 y 6, respectivamente; o
 - (iii) las SEQ ID NO: 102, 104 y 105, respectivamente; y
- (b) la CDRL1, CDRL2 y CDRL3 del segundo sitio de unión a antígeno son:
 - (i) las SEQ ID NO: 7, 8 y 9, respectivamente;
 - (ii) las SEQ ID NO: 40, 41 y 42, respectivamente; o
 - (iii) las SEQ ID NO: 107, 108 y 109, respectivamente.

3. La proteína de la reivindicación 2, en donde la CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 y CDRL3 son:

- (i) las SEQ ID NO: 3, 37, 38, 40, 41 y 42, respectivamente;

- (ii) las SEQ ID NO: 3, 718, 6, 7, 8 y 9, respectivamente; o
 - (iii) las SEQ ID NO: 102, 104, 105, 107, 108 y 109, respectivamente.
4. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde:
el VH comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en:
las SEQ ID NO: 704, 708, 711 y 715; y
el VL comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en:
las SEQ ID NO: 591, 705, 712 y 716.
5. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el VH y VL son:
(i) las SEQ ID NO: 704 y 705, respectivamente;
(ii) las SEQ ID NO: 708 y 591, respectivamente;
(iii) las SEQ ID NO: 711 y 712, respectivamente; o
(iv) las SEQ ID NO: 715 y 716, respectivamente.
6. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el segundo sitio de unión a antígeno es un fragmento variable monocatenario (scFv), en donde el scFv comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 703, 707, 710 y 714.
7. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el segundo sitio de unión a antígeno se une a una variante de CEACAM5 humana que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 391.
8. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde la proteína comprende un dominio Fc de anticuerpo o una parte del mismo que se une a CD16.
9. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D es un fragmento Fab, y el segundo sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5 es un scFv.
10. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D es un scFv, y el segundo sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5 es un fragmento Fab.

11. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, que comprende además un sitio de unión a antígeno adicional que se une a CEACAM5.
12. La proteína de la reivindicación 11, en donde el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D es un scFv, y cada uno del segundo sitio de unión a antígeno y de los sitios de unión a antígeno adicionales que se unen a CEACAM5, es un fragmento Fab.
13. La proteína de la reivindicación 11, en donde el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D es un scFv, y cada uno del segundo sitio de unión a antígeno y de los sitios de unión a antígeno adicionales que se unen a CEACAM5, es un fragmento scFv.
14. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 6-13, en donde el scFv que se une a CEACAM5 y/o el scFv que se une a NKG2D comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera.
15. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 6-14, en donde el scFv está ligado a un dominio Fc de anticuerpo o a una parte del mismo que se une a CD16, a través de una bisagra que comprende Ala-Ser o Gly-Ser.
16. La proteína de la reivindicación 15, en donde la bisagra comprende además una secuencia de aminoácidos Thr-Lys-Gly.
17. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 6-16, en donde el dominio variable de cadena pesada del scFv forma un puente disulfuro con el dominio variable de cadena ligera del scFv.
18. La proteína de la reivindicación 17, en donde el puente disulfuro se forma entre el C44 del dominio variable de cadena pesada y el C100 del dominio variable de cadena ligera, numerados según el esquema de numeración de Kabat.
19. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 6-18, en donde el dominio variable de cadena pesada del scFv está ligado al dominio variable de cadena ligera del scFv a través de un enlazador flexible.

20. La proteína e la reivindicación 19, en donde el enlazador flexible comprende (G4S)₄ (SEQ ID NO: 532).
21. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 14-20, en donde dentro del scFv, el dominio variable de cadena pesada está situado en el extremo C del dominio variable de cadena ligera.
22. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 14-20, en donde dentro del scFv, el dominio variable de cadena pesada está situado en el extremo N del dominio variable de cadena ligera.
23. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 9-12 y 14-22, en donde el Fab no está situado entre un sitio de unión a antígeno y el dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo.
24. La proteína según una cualquiera de las reivindicaciones 1-23, en donde el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % idéntica a una secuencia de VH seleccionada de la Tabla 1; y un VL que comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % idéntica a una secuencia de VL seleccionada de la Tabla 1; en donde la secuencia de VH y la secuencia de VL seleccionadas de la Tabla 1 son del mismo clon.
25. La proteína según una cualquiera de las reivindicaciones 1-23, en donde el primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D comprende un VH que comprende una CDRH1, CDRH2 y CDRH3 que comprenden las secuencias de aminoácidos de las SEQ ID NO: 495, 496 y 510, respectivamente; y un VL que comprende una CDRL1, CDRL2 y la CDRL3 que comprenden las secuencias de las SEQ ID NO: 530, 224 y 499, respectivamente.
26. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 24-25, en donde el VH del primer sitio de unión a antígeno comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % idéntica a la SEQ ID NO: 508, y el VL del primer sitio de unión a antígeno comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % idéntica a la SEQ ID NO: 493.

27. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 24-26, en donde el VH del primer sitio de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:508, y el VL del primer sitio de unión a antígeno comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:493.

28. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-27, en donde el dominio Fc de anticuerpo es un dominio Fc de anticuerpo de IgG1 humano.

29. La proteína de la reivindicación 28, en donde el dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % idéntica a la SEQ ID NO:531.

30. La proteína de la reivindicación 28 o 29, en donde al menos una cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una o más mutaciones, con respecto a la SEQ ID NO:531, en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 y K439, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

31. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 28-30, en donde al menos una cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una o más mutaciones, con respecto a la SEQ ID NO:531, seleccionadas del grupo que consiste en: Q347E, Q347R, Y349S, Y349K, Y349T, Y349D, Y349E, Y349C, L351K, L351D, L351Y, S354C, E356K, E357Q, E357L, E357W, K360E, K360W, Q362E, S364K, S364E, S364H, S364D, T366V, T366I, T366L, T366M, T366K, T366W, T366S, L368E, L368A, L368D, K370S, N390D, N390E, K392L, K392M, K392V, K392F, K392D, K392E, T394F, D399R, D399K, D399V, S400K, S400R, D401K, F405A, F405T, Y407A, Y407I, Y407V, K409F, K409W, K409D, T411D, T411E, K439D y K439E, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

32. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 29-31, en donde una cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una o más mutaciones, con respecto a la SEQ ID NO:531, en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 y K439; y la otra cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una o más mutaciones, con respecto a la SEQ ID NO:531, en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en:

Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, D401, F405, Y407, K409, T411 y K439, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

33. La proteína de la reivindicación 32, en donde una cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende las sustituciones K360E y K409W con respecto a la SEQ ID NO:531; y la otra cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende las sustituciones Q347R, D399V y F405T con respecto a la SEQ ID NO:531, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

34. La proteína de la reivindicación 32 o 33, en donde una cadena polipeptídica de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende una sustitución Y349C con respecto a la SEQ ID NO:531; y la otra cadena polipeptídica de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende una sustitución S354C con respecto a la SEQ ID NO:531, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

35. Una proteína que comprende:

(a) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:549;

(b) un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:550; y

(c) un tercer polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO:702, 706, 709 y 713.

36. Una molécula de ácido nucleico aislada o una pluralidad de moléculas de ácido nucleico aisladas, la proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-35.

37. Un vector de expresión que comprende la molécula de ácido nucleico aislada, o la pluralidad de moléculas de ácido nucleico aisladas, de la reivindicación 36.

38. Una pluralidad de vectores de expresión que conjuntamente comprende la pluralidad de moléculas de ácido nucleico aisladas de la reivindicación 36.

39. Una célula hospedadora que comprende el vector de expresión de la reivindicación 37 o la pluralidad de vectores de expresión de la reivindicación 38.

40. La célula hospedadora de la reivindicación 39, en donde la célula hospedadora es una célula de ovario de hámster chino (CHO).
41. Un método de producción de una proteína que comprende:
- (a) un primer sitio de unión a antígeno que se une a NKG2D;
 - (b) un segundo sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5; y
 - (c) un tercer sitio de unión a antígeno, o un dominio Fc de anticuerpo o una parte del mismo, que se une a CD16;
- en donde el método comprende:
- (i) proporcionar una célula hospedadora de la reivindicación 39;
 - (ii) cultivar la célula hospedadora en un medio en condiciones adecuadas para expresar la proteína; y
 - (iii) aislar la proteína del medio.
42. Un método de producción de una proteína que comprende un primer, segundo y tercer polipéptido, en donde el método comprende:
- (a) proporcionar una o más células hospedadoras, en donde la una o más células hospedadoras comprenden un vector de expresión, o una pluralidad de vectores de expresión, que comprende:
 - (i) una primera molécula de ácido nucleico aislada que codifica el primer polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:549;
 - (ii) una segunda molécula de ácido nucleico aislada que codifica el segundo polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:550; y
 - (iii) una tercera molécula de ácido nucleico que codifica el tercer polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO:702, 706, 709 y 713;
 - (b) cultivar la una o más células en un medio de cultivo en condiciones adecuadas para expresar el primer, segundo y tercer polipéptido;
 - (c) recuperar los polipéptidos de la célula hospedadora y/o del medio de cultivo; y
 - (d) purificar el polipéptido recuperado en condiciones que produzcan de ese modo la proteína.
43. Una composición farmacéutica que comprende una proteína de una cualquiera de las

reivindicaciones 1-35 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

44. Un método para potenciar la muerte de células tumorales en un sujeto con cáncer, comprendiendo el método, exponer la célula tumoral y un linfocito citolítico natural a una cantidad eficaz de la proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-35 o a la composición farmacéutica de la reivindicación 43.

45. Un método de tratamiento del cáncer, comprendiendo el método, administrar a un paciente que lo necesite, una cantidad eficaz de la proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-35 o de la composición farmacéutica de la reivindicación 43.

46. Uso de una proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-35, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer en un sujeto humano que lo necesite.

47. Uso de una proteína en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer en un sujeto humano que lo necesite, en donde la proteína comprende:

(a) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:549;

(b) un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:550; y

(c) un tercer polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO:702, 706, 709 y 713.

48. El método de la reivindicación 44 o la reivindicación 45, o el uso de la reivindicación 46 o la reivindicación 47, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en: cáncer gastrointestinal, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón no microcítico y cáncer de esófago.

49. El método de la reivindicación 44 o la reivindicación 45, o el uso de la reivindicación 46 o la reivindicación 47, en donde el cáncer expresa CEACAM5.

50. Una combiterapia para tratar el cáncer, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de la proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 1-35 o la composición farmacéutica de la reivindicación 43 y una cantidad

terapéuticamente eficaz de un inhibidor de punto de control.

51. La combiterapia de la reivindicación 50, en donde el inhibidor de punto de control es un anticuerpo anti-PD1 o un anticuerpo anti-PD-L1.

52. La combiterapia de la reivindicación 50, en donde el inhibidor de punto de control es pembrolizumab.

53. Una proteína que comprende un sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5, en donde el sitio de unión a antígeno comprende un VH que comprende una CDRH1, CDRH2 y CDRH3, y un VL que comprende una CDRL1, CDRL2 y CDRL3, en donde:

- (i) la CDRH1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 3 y 102;
- (ii) la CDRH2 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 37, 104 y 718;
- (iii) la CDRH3 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 6, 38 y 105;
- (iv) la CDRL1 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 7, 40 y 107;
- (v) la CDRL2 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 8, 41 y 108; y
- (vi) la CDRL3 comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 9, 42 y 109.

54. La proteína de la reivindicación 53, en donde:

- (a) la CDRH1, CDRH2 y CDRH3 son:
 - (i) las SEQ ID NO: 3, 37 y 38, respectivamente;
 - (ii) las SEQ ID NO: 3, 718 y 6, respectivamente; o
 - (iii) las SEQ ID NO: 102, 104 y 105, respectivamente; y
- (b) la CDRL1, CDRL2 y CDRL3 son:
 - (i) las SEQ ID NO: 7, 8 y 9, respectivamente;
 - (ii) las SEQ ID NO: 40, 41 y 42, respectivamente; o
 - (iii) las SEQ ID NO: 107, 108 y 109, respectivamente.

55. La proteína de la reivindicación 54, en donde la CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1,

CDRL2 y CDRL3 son:

- (i) las SEQ ID NO: 3, 37, 38, 40, 41 y 42, respectivamente;
- (ii) las SEQ ID NO: 3, 718, 6, 7, 8 y 9, respectivamente; o
- (iii) las SEQ ID NO: 102, 104, 105, 107, 108 y 109, respectivamente.

56. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 53-55, en donde:

el VH comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en:
las SEQ ID NO: 704, 708, 711 y 715; y

el VL comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en:
las SEQ ID NO: 591, 705, 712 y 716.

57. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 53-56, en donde el VH y VL son:

- (i) las SEQ ID NO: 704 y 705, respectivamente;
- (ii) las SEQ ID NO: 708 y 591, respectivamente;
- (iii) las SEQ ID NO: 711 y 712, respectivamente; o
- (iv) las SEQ ID NO: 715 y 716, respectivamente.

58. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 53-57, en donde el sitio de unión a antígeno es un fragmento Fab o un scFv.

59. La proteína de la reivindicación 58, donde el sitio de unión a antígeno es un scFv que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en: las SEQ ID NO: 703, 707, 710 y 714.

60. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 53-59, en donde el sitio de unión a antígeno se une a una variante de CEACAM5 humana que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 391.

61. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 53-60, en donde la proteína comprende un dominio Fc de anticuerpo o una parte del mismo que se une a CD16.

62. La proteína de la reivindicación 61, en donde el dominio Fc de anticuerpo o una parte del mismo que se une a CD16 está ligado al sitio de unión a antígeno a través de una bisagra que comprende Ala-Ser o Gly-Ser.

63. La proteína de la reivindicación 62, en donde la bisagra comprende además una secuencia de aminoácidos Thr-Lys-Gly.
64. La proteína de la reivindicación 59, en donde el dominio VH del scFv forma un puente disulfuro con el dominio VL del scFv.
65. La proteína de la reivindicación 64, en donde el puente disulfuro se forma entre el C44 del VH y el C100 del VL, numerados según el esquema de numeración de Kabat.
66. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 58-65, en donde el VH del scFv está ligado al VL del scFv a través de un enlazador flexible.
67. La proteína de la reivindicación 66, en donde el enlazador flexible comprende (G4S)₄ (SEQ ID NO: 532).
68. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 58-67, en donde dentro del scFv, el VH está situado en el extremo C del VL.
69. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 58-67, en donde dentro del scFv, el VH está situado en el extremo N del VL.
70. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 61-69, en donde el dominio Fc de anticuerpo es un dominio Fc de anticuerpo de IgG1 humano.
71. La proteína de la reivindicación 70, en donde el dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una secuencia de aminoácidos al menos 90 % idéntica a la SEQ ID NO:531.
72. La proteína de la reivindicación 70 o 71, en donde al menos una cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una o más mutaciones, con respecto a la SEQ ID NO:531, en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 y K439, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

73. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 70-72, en donde al menos una cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una o más mutaciones, con respecto a la SEQ ID NO:531, seleccionadas del grupo que consiste en: Q347E, Q347R, Y349S, Y349K, Y349T, Y349D, Y349E, Y349C, L351K, L351D, L351Y, S354C, E356K, E357Q, E357L, E357W, K360E, K360W, Q362E, S364K, S364E, S364H, S364D, T366V, T366I, T366L, T366M, T366K, T366W, T366S, L368E, L368A, L368D, K370S, N390D, N390E, K392L, K392M, K392V, K392F, K392D, K392E, T394F, D399R, D399K, D399V, S400K, S400R, D401K, F405A, F405T, Y407A, Y407I, Y407V, K409F, K409W, K409D, T411D, T411E, K439D y K439E, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

74. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 71-73, en donde una cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una o más mutaciones, con respecto a la SEQ ID NO:531, en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, K360, Q362, S364, T366, L368, K370, K392, T394, D399, S400, D401, F405, Y407, K409, T411 y K439; y la otra cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende una o más mutaciones, con respecto a la SEQ ID NO:531, en una o más posiciones seleccionadas del grupo que consiste en: Q347, Y349, L351, S354, E356, E357, S364, T366, L368, K370, N390, K392, T394, D399, D401, F405, Y407, K409, T411 y K439, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

75. La proteína de la reivindicación 74, en donde una cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende las sustituciones K360E y K409W con respecto a la SEQ ID NO:531; y la otra cadena polipeptídica del dominio Fc de anticuerpo o la parte del mismo comprende las sustituciones Q347R, D399V y F405T con respecto a la SEQ ID NO:531, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

76. La proteína de la reivindicación 74 o la reivindicación 75, en donde una cadena polipeptídica de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende una sustitución Y349C con respecto a la SEQ ID NO:531; y la otra cadena polipeptídica de la región constante de cadena pesada del anticuerpo comprende una sustitución S354C con respecto a la SEQ ID NO:531, numeradas según el sistema de numeración de la UE.

77. La proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 53-76 que comprende además un

segundo sitio de unión a antígeno que se une a CEACAM5.

78. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica la proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 53-77.
79. Un vector de expresión que comprende la molécula de ácido nucleico aislada de la reivindicación 78.
80. Una célula hospedadora que comprende el vector de expresión de la reivindicación 79.
81. La célula hospedadora de la reivindicación 80, en donde la célula hospedadora es una célula de ovario de hámster chino (CHO).
82. Un método de producción de una proteína que comprende:
- (a) proporcionar la célula hospedadora de la reivindicación 80 o la reivindicación 81;
 - (b) cultivar la célula hospedadora en un medio en condiciones adecuadas para expresar la proteína; y
 - (c) aislar la proteína del medio.
83. Una composición farmacéutica que comprende una proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 53-77 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
84. Un método para potenciar la muerte de células tumorales en un sujeto con cáncer, comprendiendo el método, exponer la célula tumoral y un linfocito citolítico natural a una cantidad eficaz de la proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 53-77 o a la composición farmacéutica de la reivindicación 83.
85. Un método de tratamiento del cáncer, comprendiendo el método, administrar a un paciente que lo necesite, una cantidad eficaz de la proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 53-77 o de la composición farmacéutica de la reivindicación 83.
86. Uso de una proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 53-77, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer en un sujeto humano que lo necesite.

87. El método de la reivindicación 83 o la reivindicación 84, o el uso de la reivindicación 86, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en: cáncer gastrointestinal, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, cáncer de pulmón no microcítico y cáncer de esófago.
88. El método de la reivindicación 83 o la reivindicación 84, o el uso de la reivindicación 86, en donde el cáncer expresa CEACAM5.
89. Una combiterapia para tratar el cáncer, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite, una cantidad terapéuticamente eficaz de la proteína de una cualquiera de las reivindicaciones 53-77 o la composición farmacéutica de la reivindicación 83 y una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de punto de control.
90. La combiterapia de la reivindicación 89, en donde el inhibidor de punto de control es un anticuerpo anti-PD1 o un anticuerpo anti-PD-L1.
91. La combiterapia de la reivindicación 89, en donde el inhibidor de punto de control es pembrolizumab.

RESUMEN

Se describen proteínas de unión multiespecíficas que se unen a NKG2D, CD16 y CEACAM5, así como composiciones farmacéuticas y métodos terapéuticos útiles para el tratamiento del cáncer

1/55

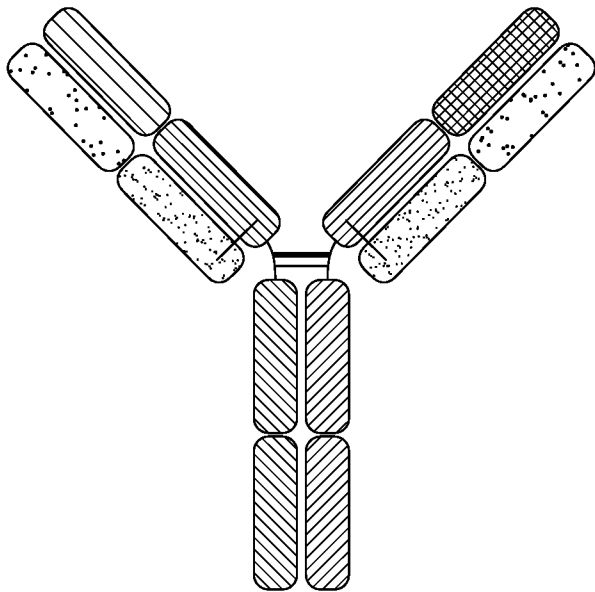


FIG.1

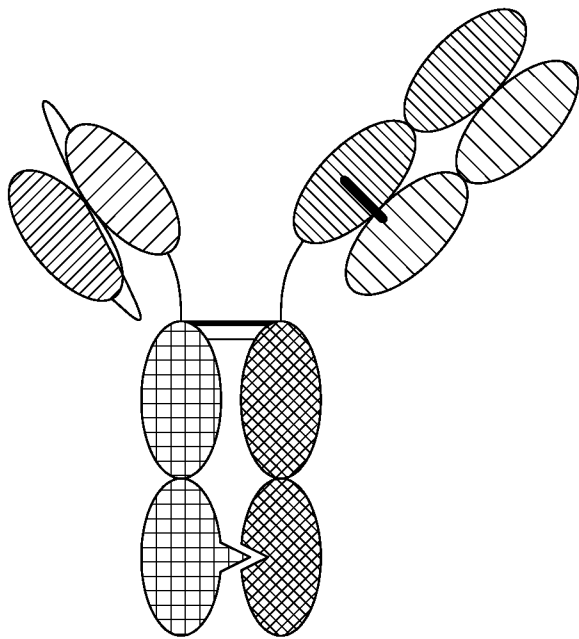


FIG.2A

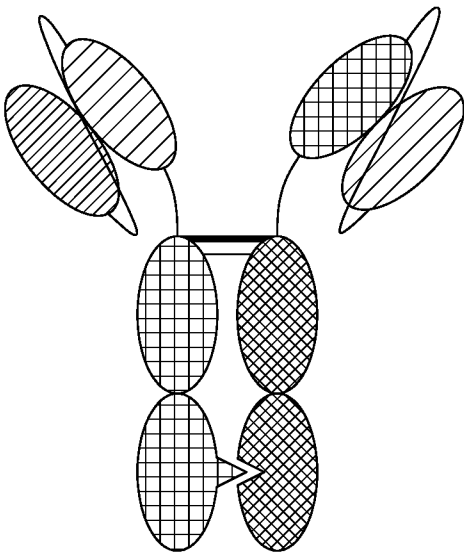


FIG.2B

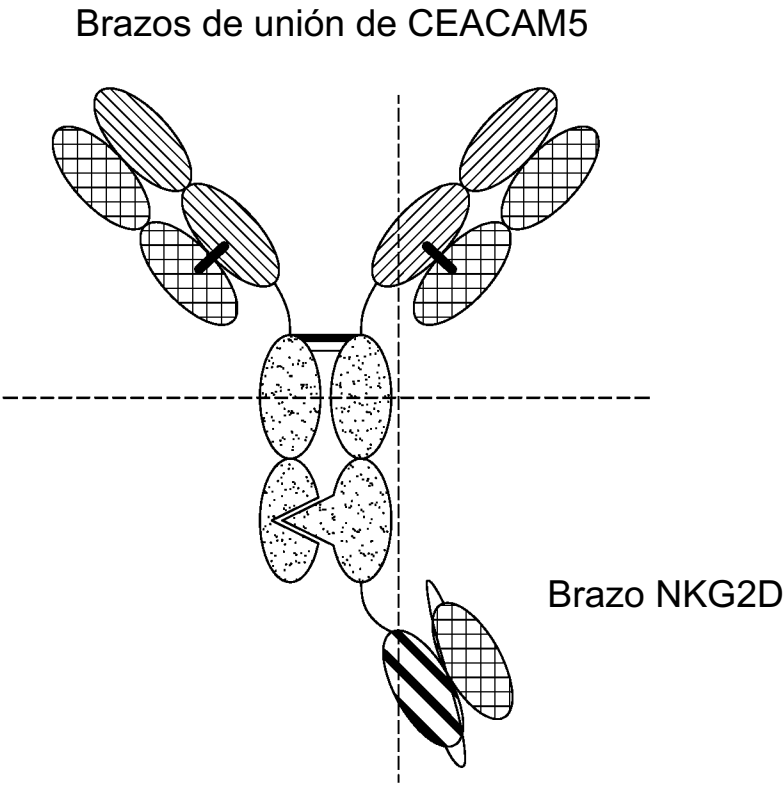


FIG.2C

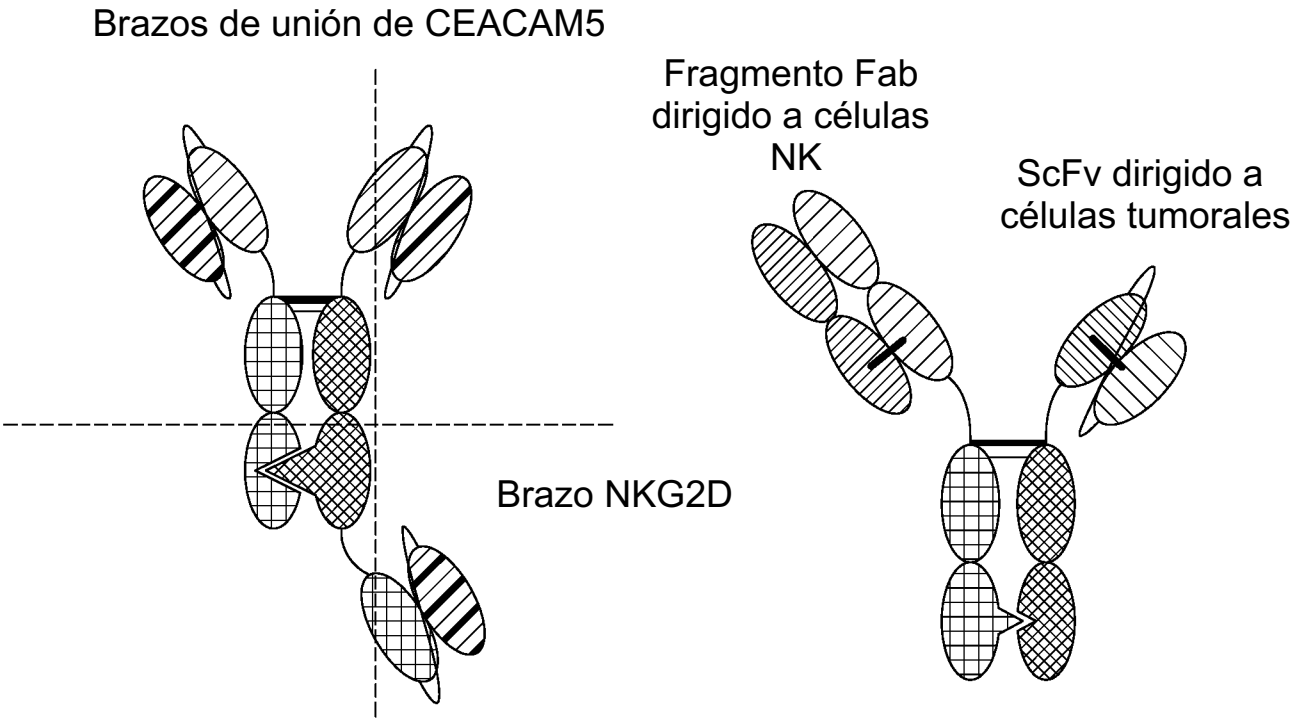


FIG.2D

FIG.2E

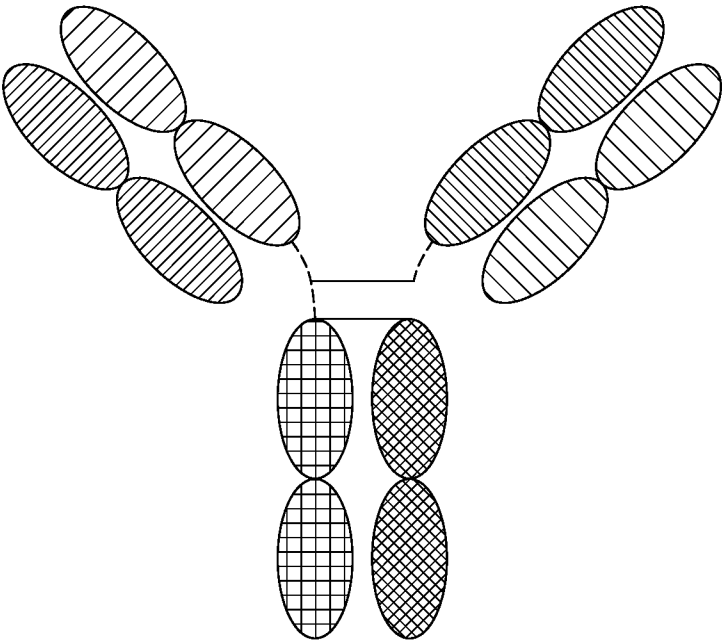


FIG.3

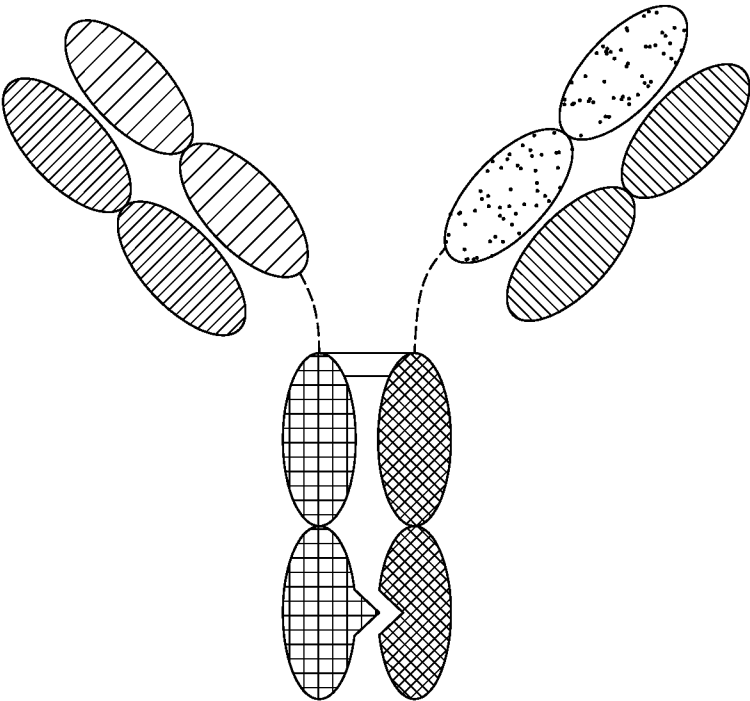


FIG.4

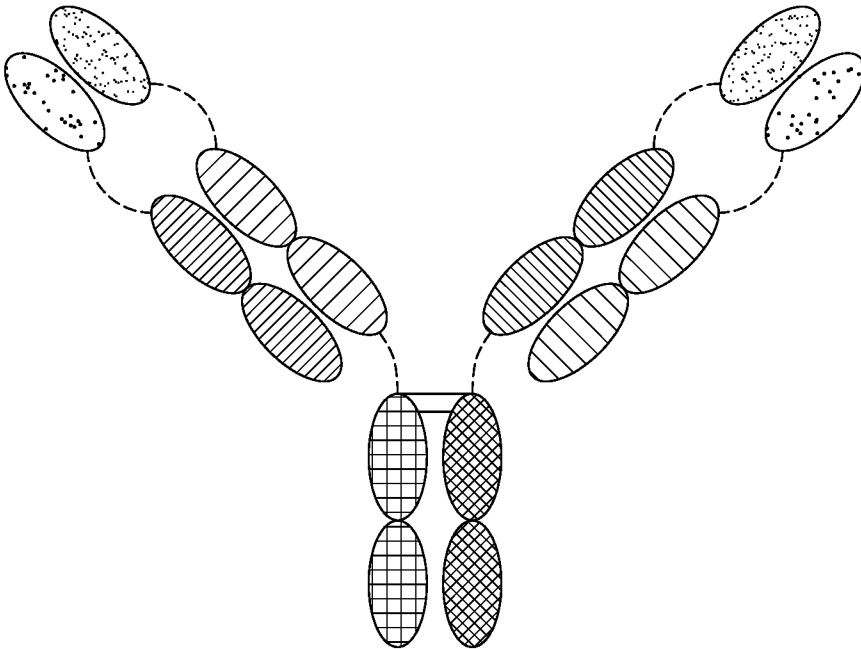


FIG.5

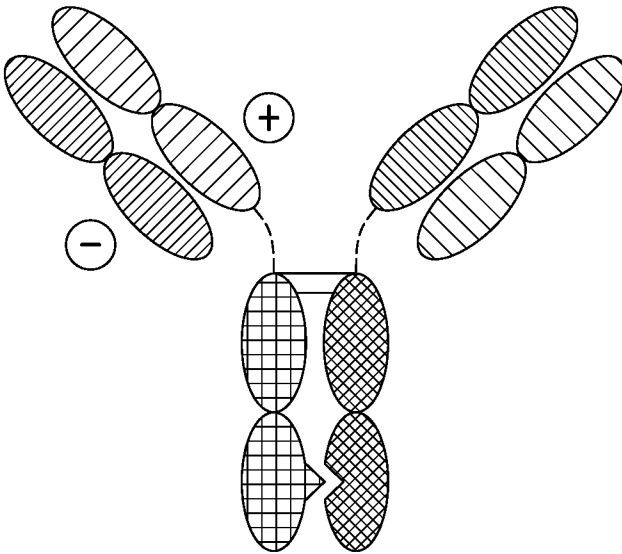


FIG.6

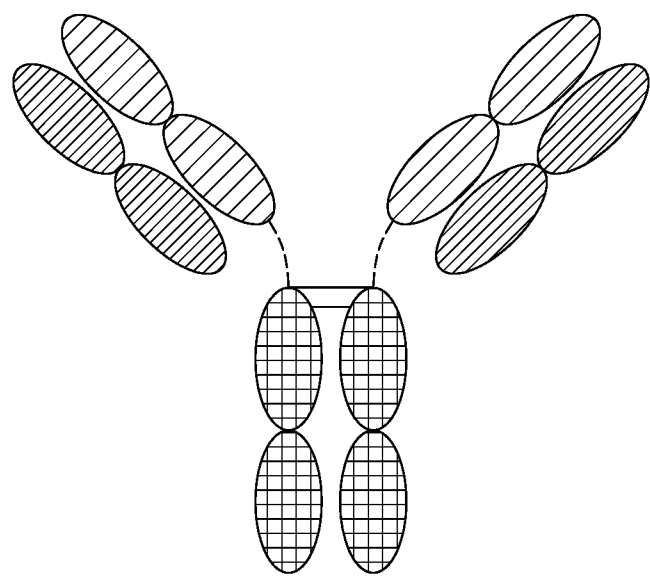


FIG.7

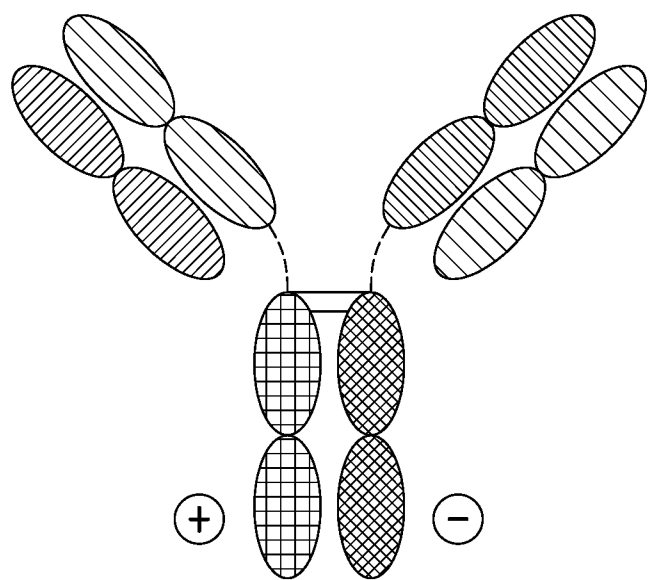


FIG.8

6/55

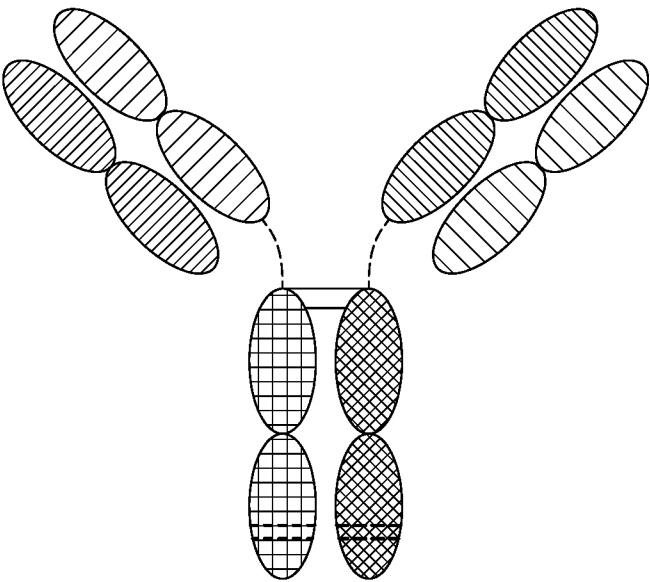


FIG.9

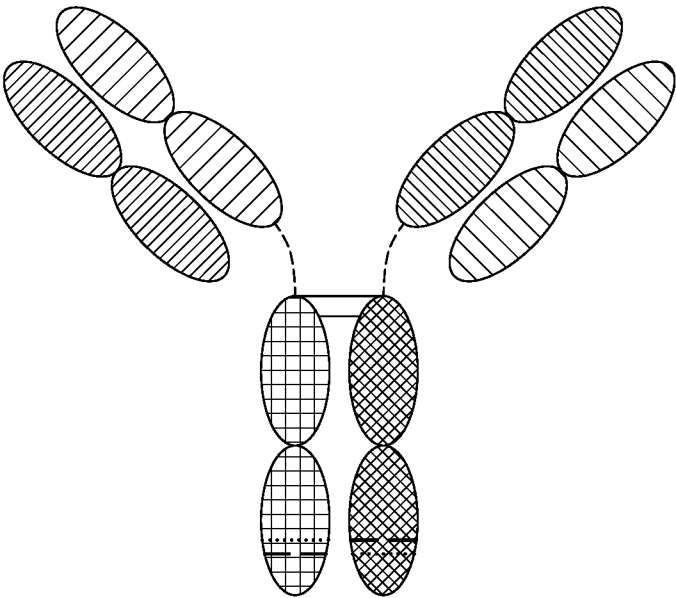


FIG.10

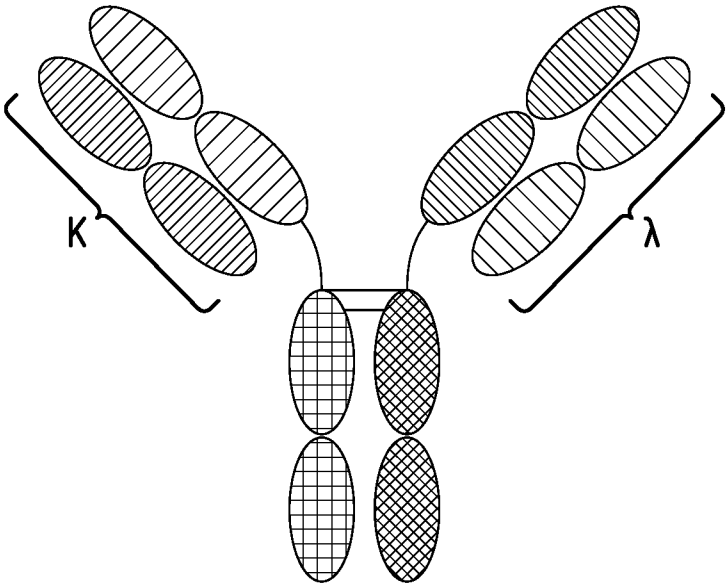


FIG.13A

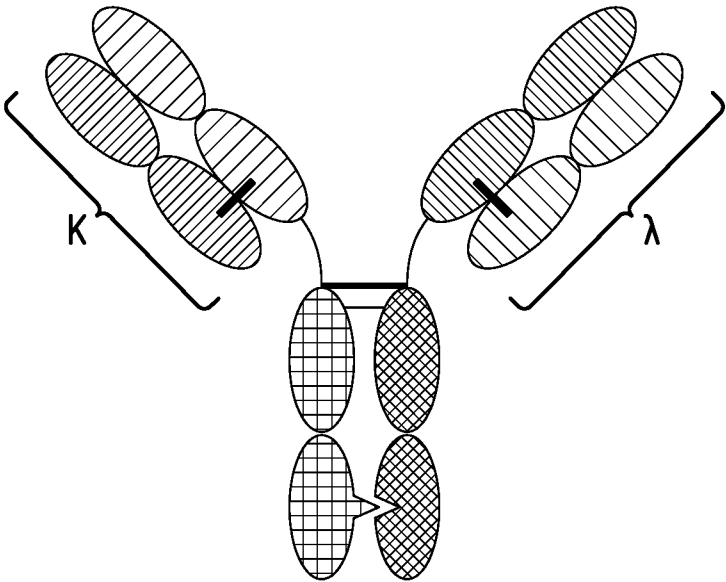


FIG.13B

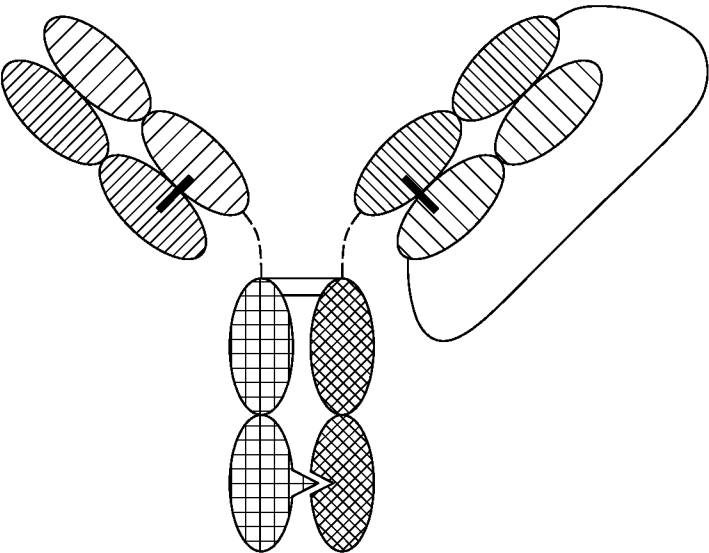


FIG.14

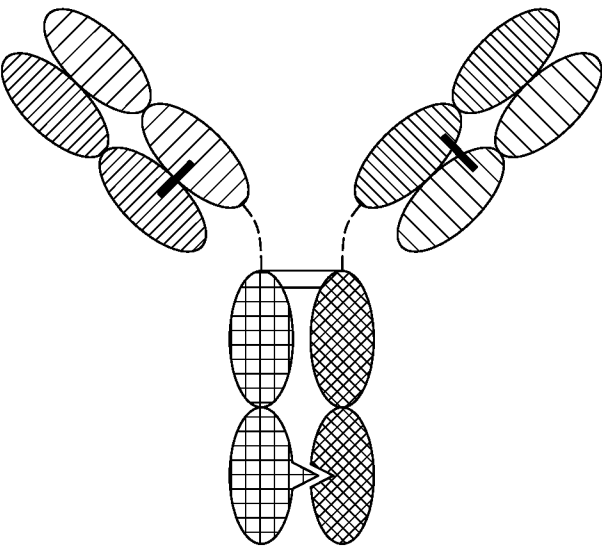


FIG.15

10/55

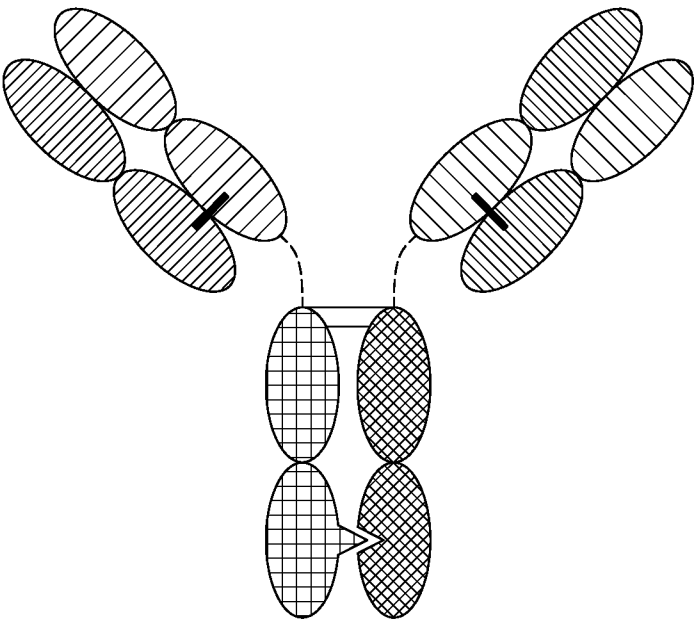


FIG.16

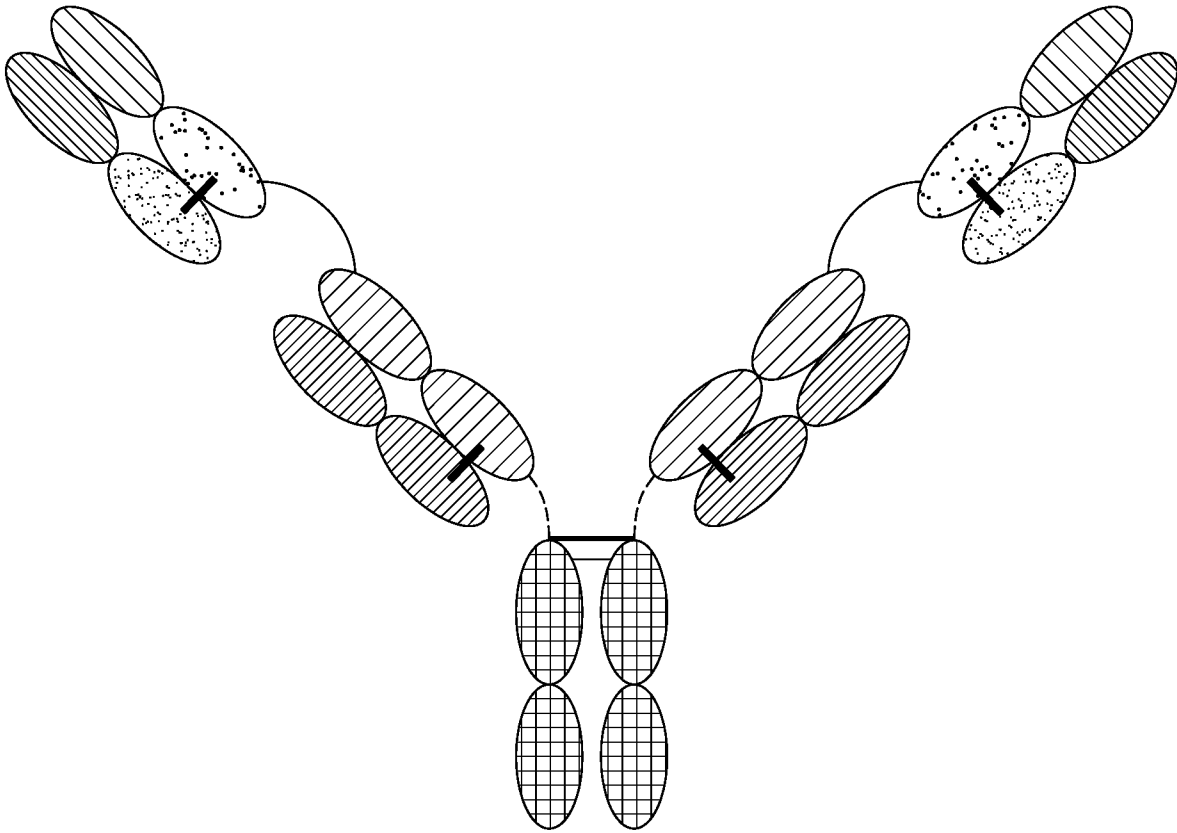


FIG.17

11/55

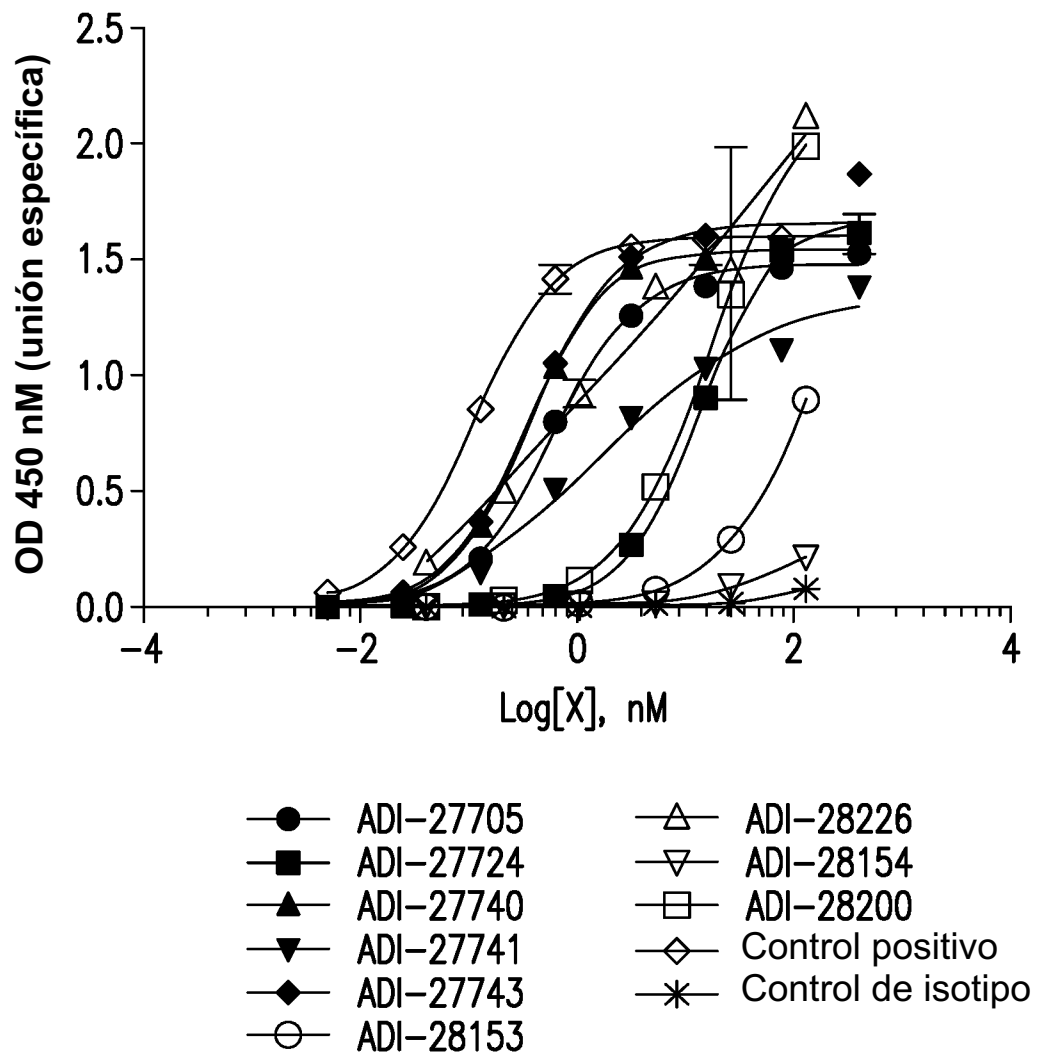


FIG.18

12/55

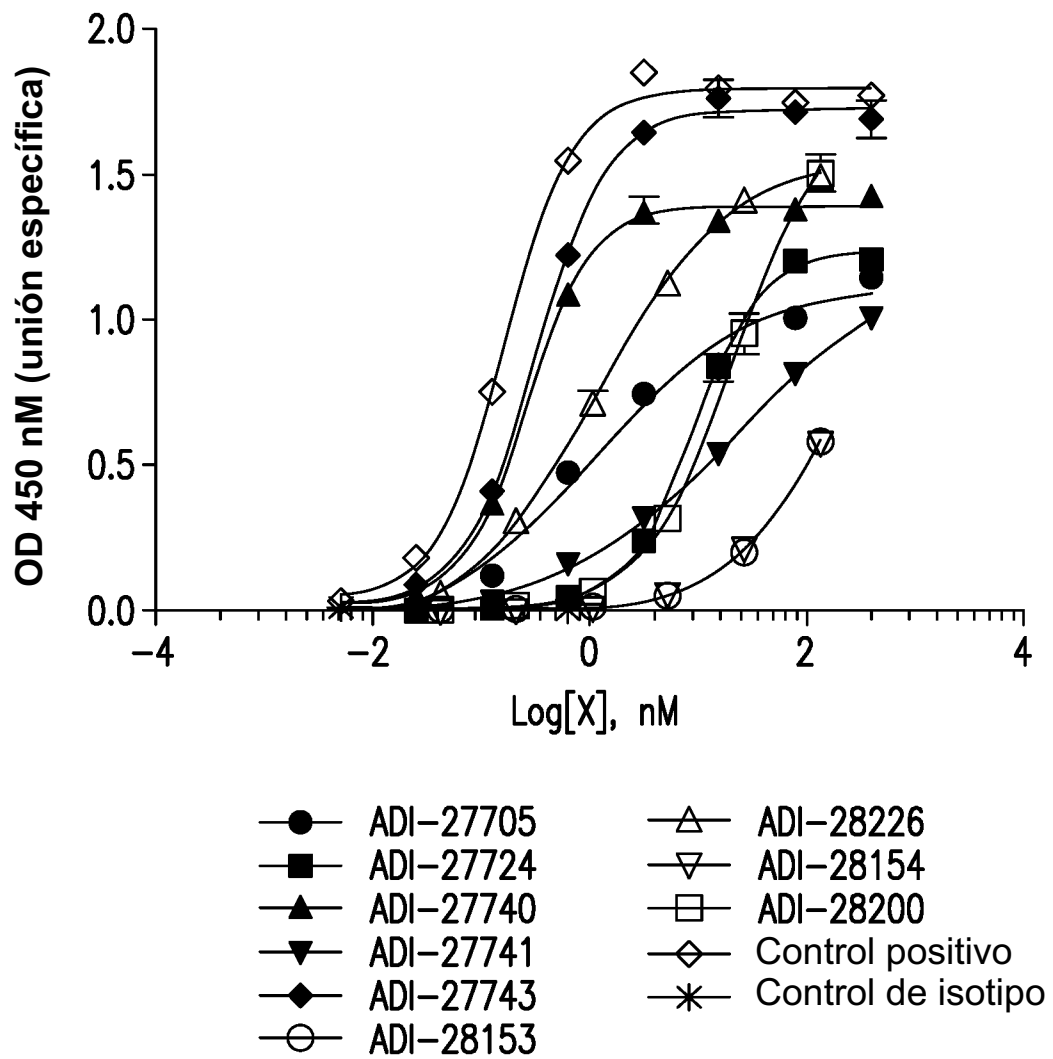


FIG.19

13/55

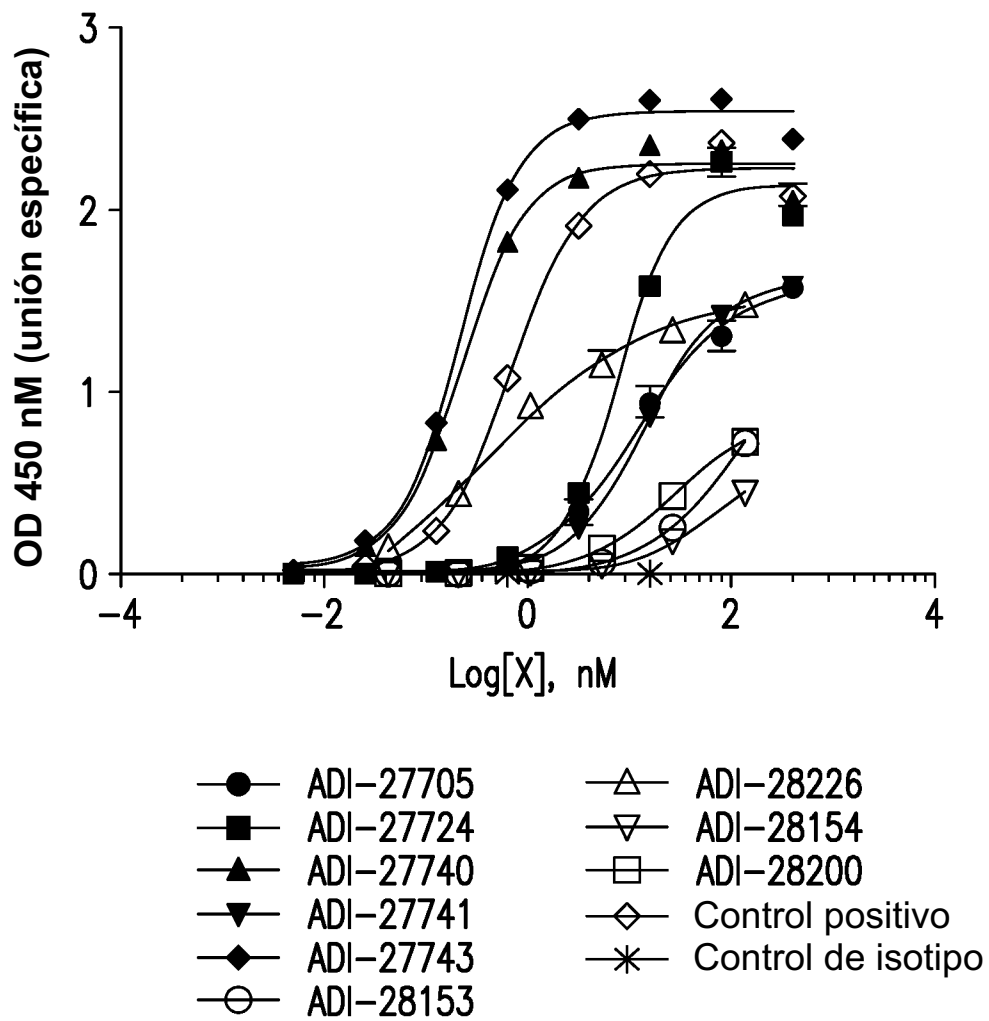


FIG.20

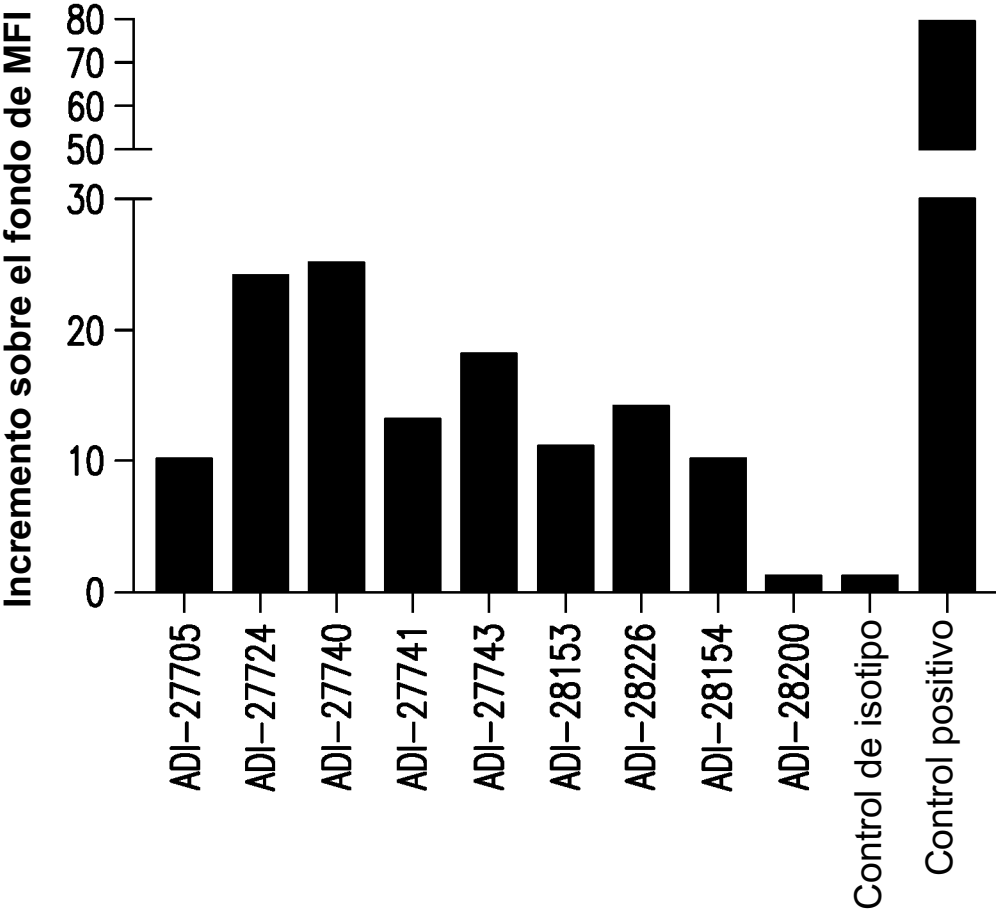


FIG.21

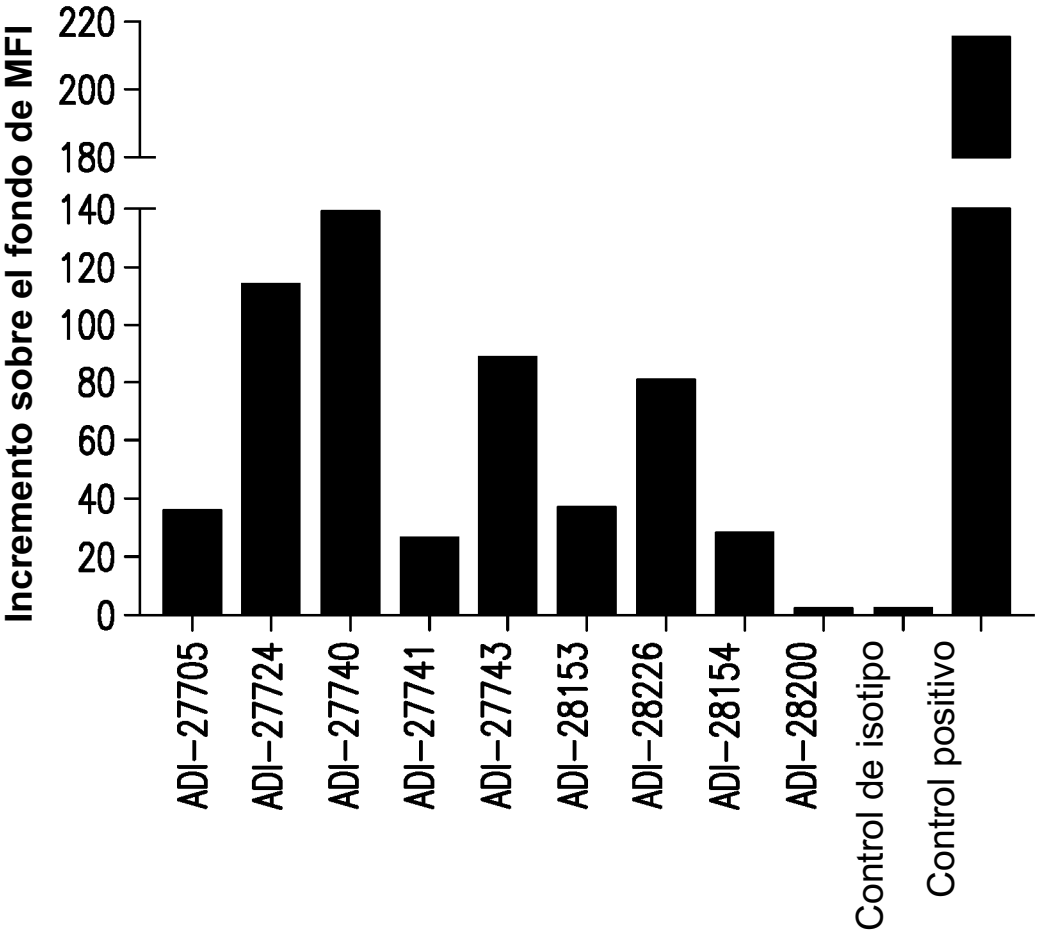


FIG.22

16/55

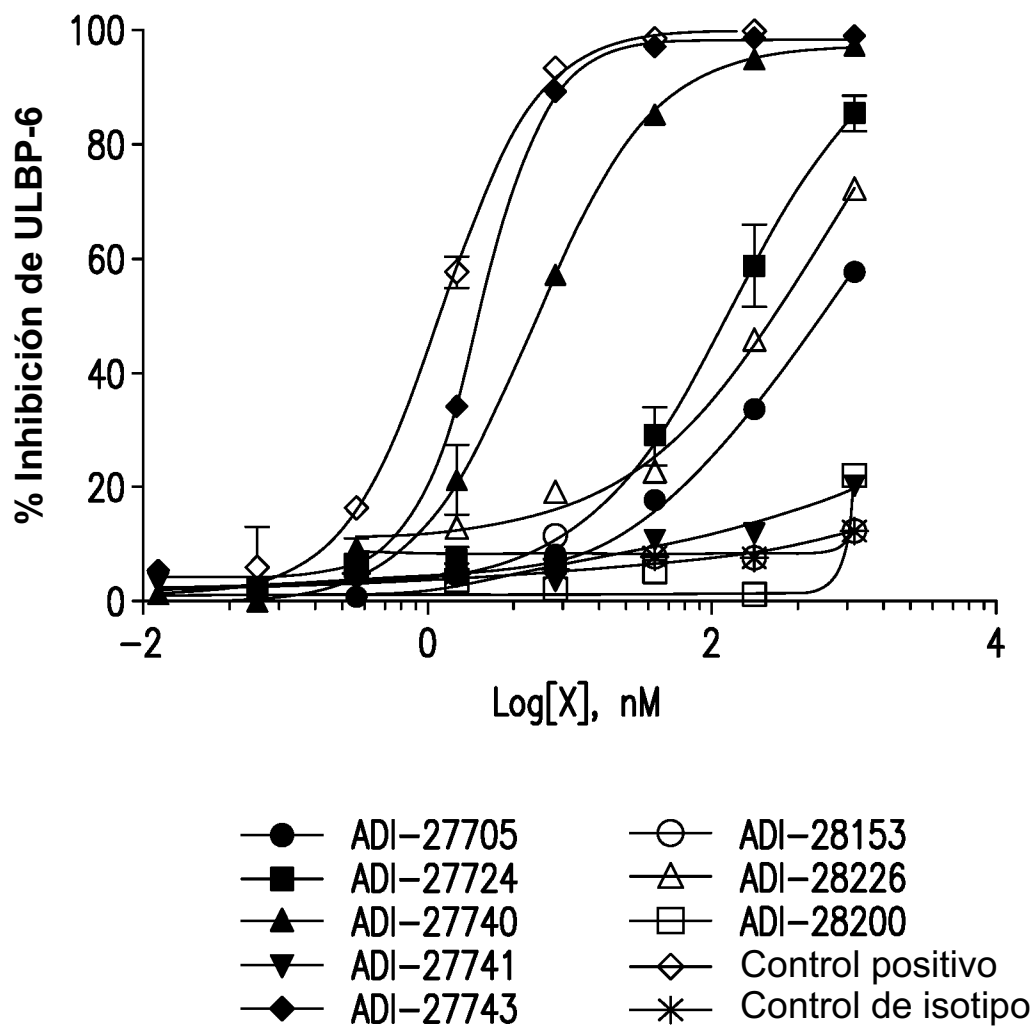


FIG.23

17/55

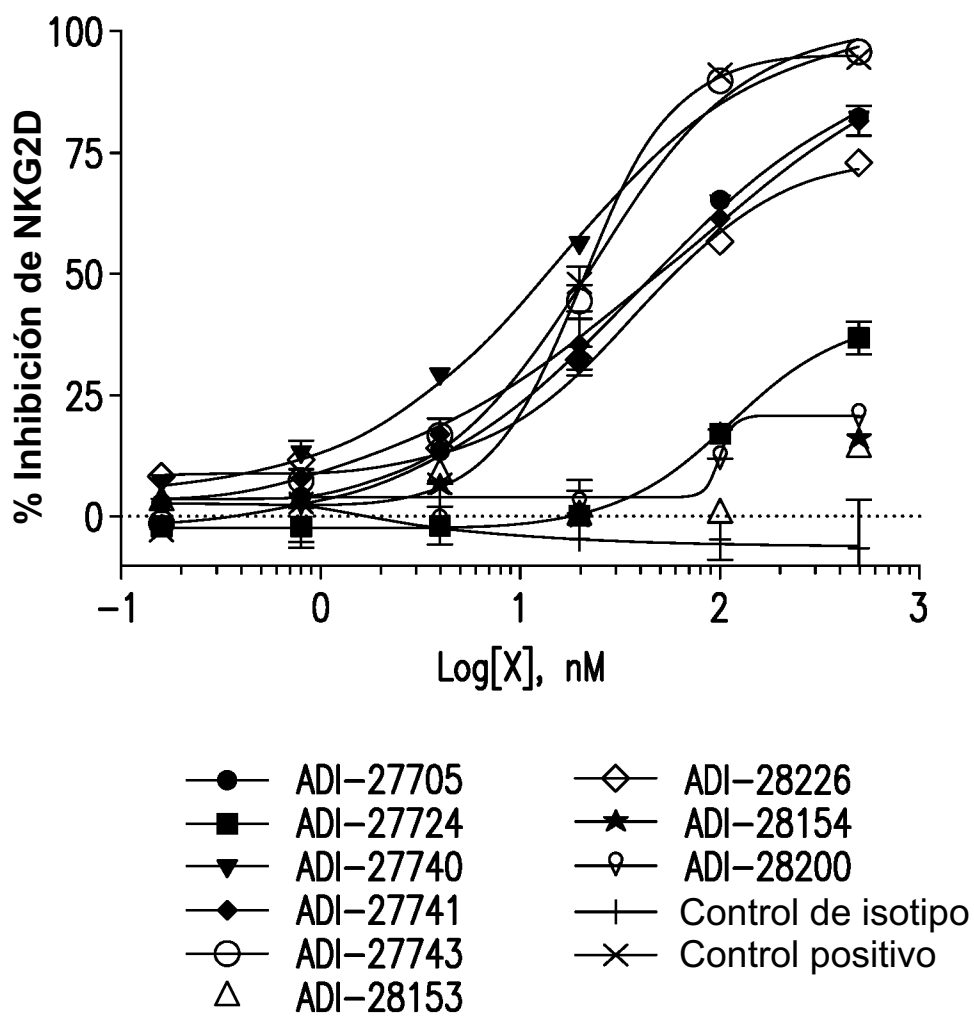


FIG.24

18/55

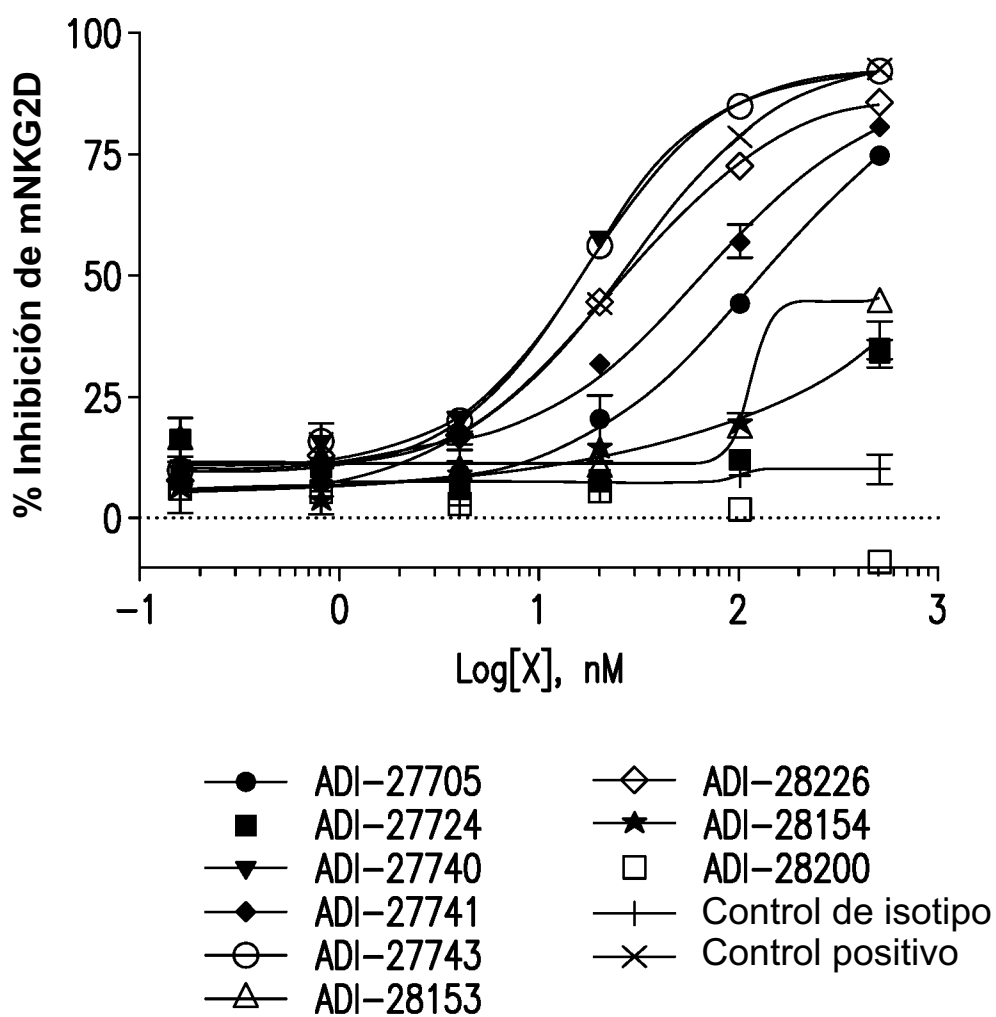


FIG.25

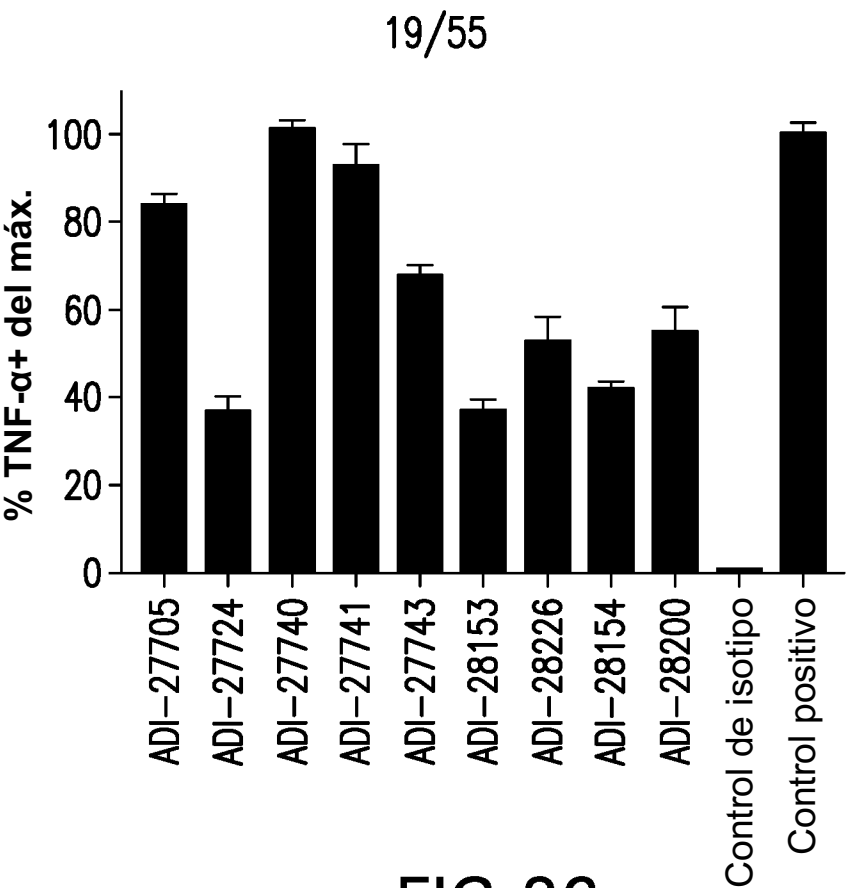


FIG.26

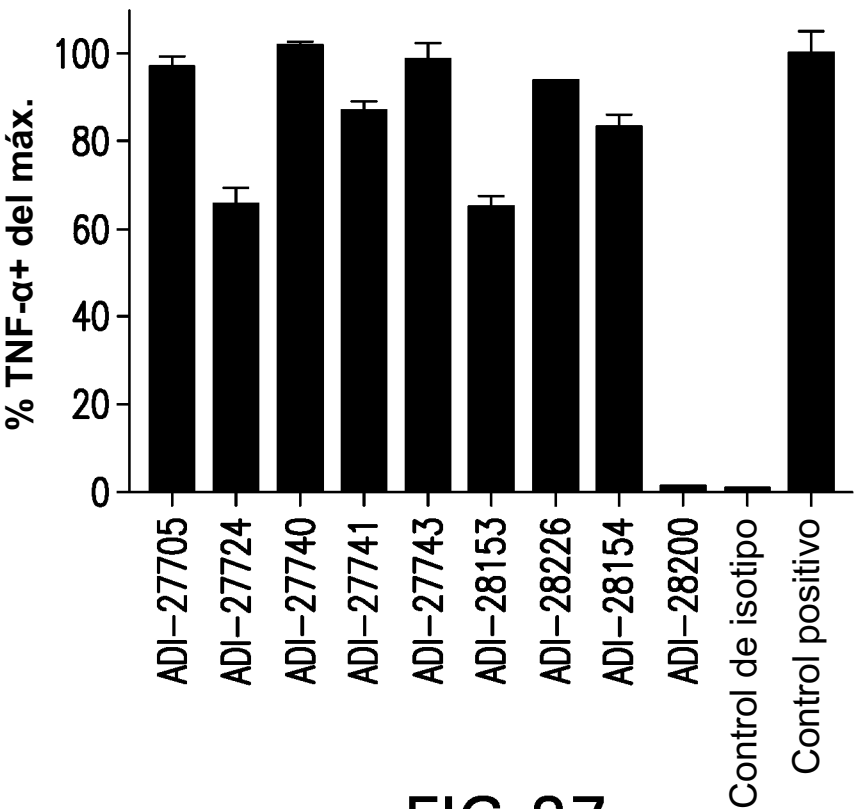


FIG.27

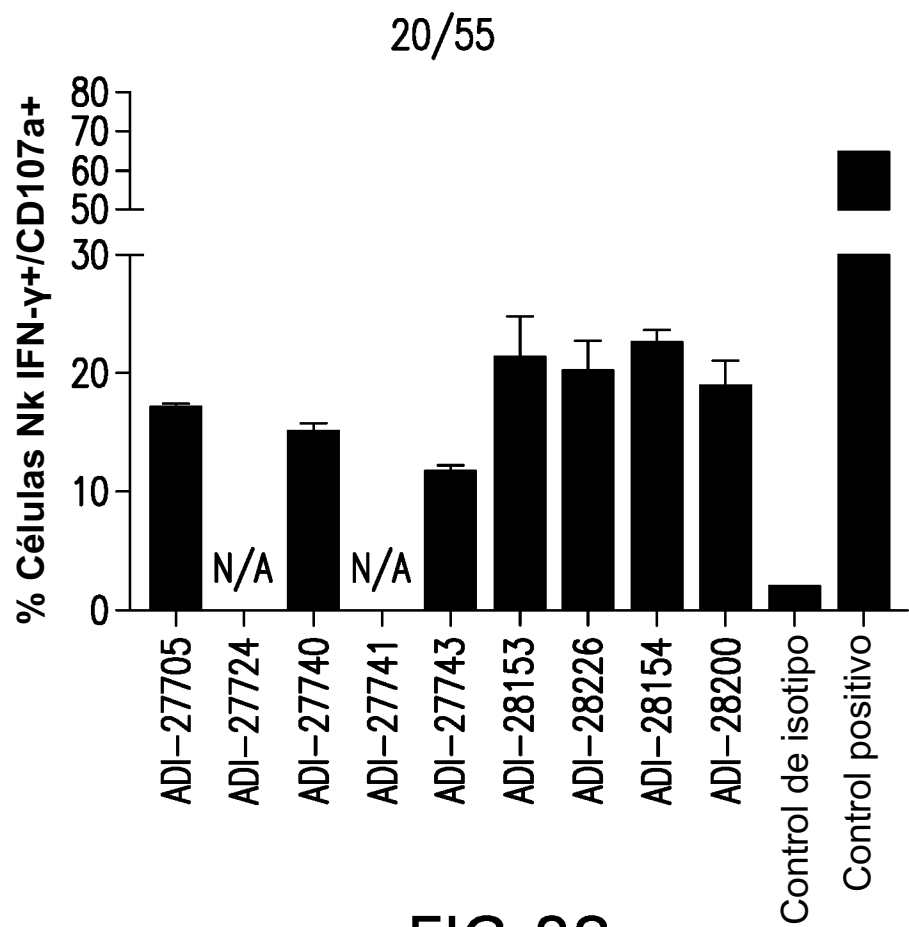


FIG.28

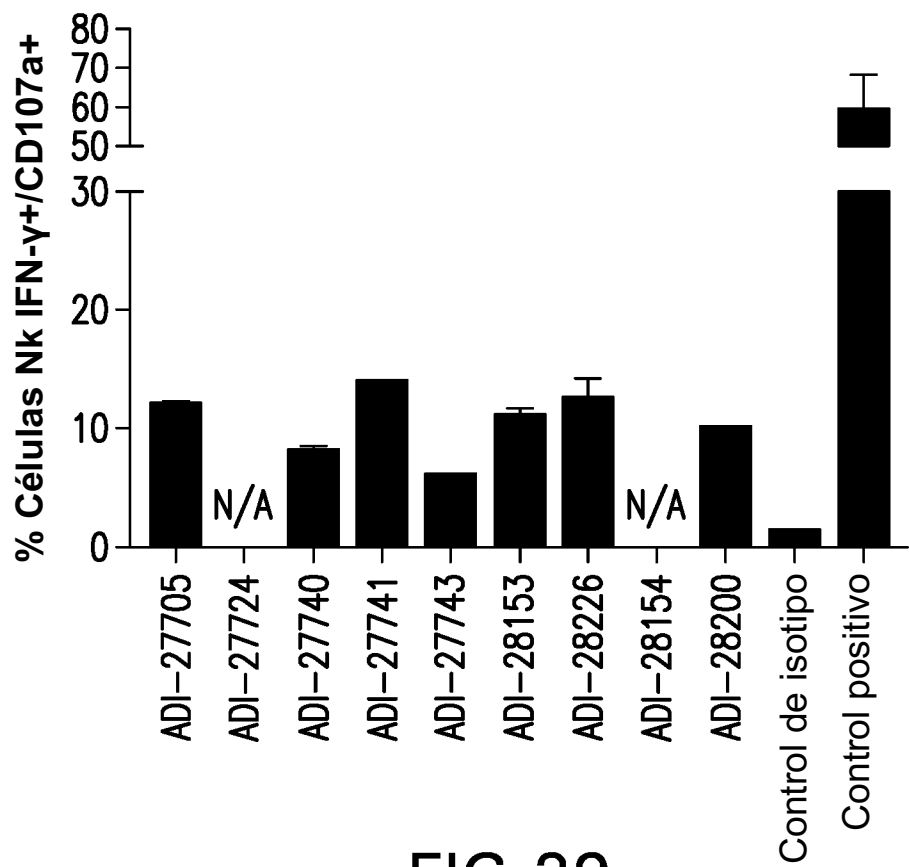


FIG.29

21/55

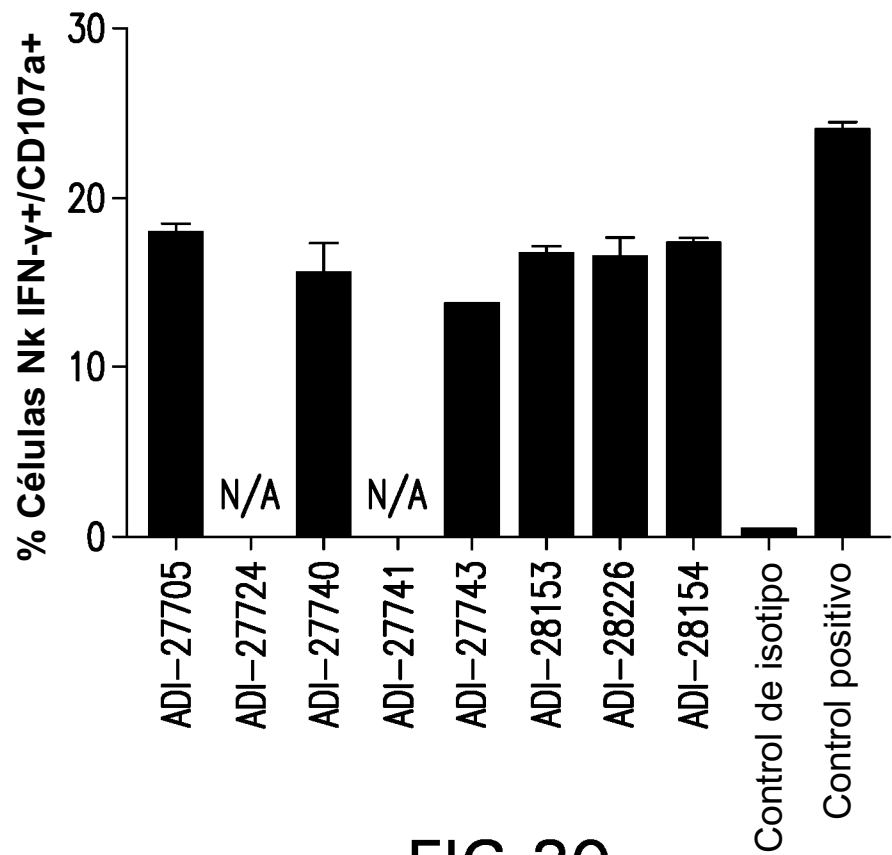


FIG.30

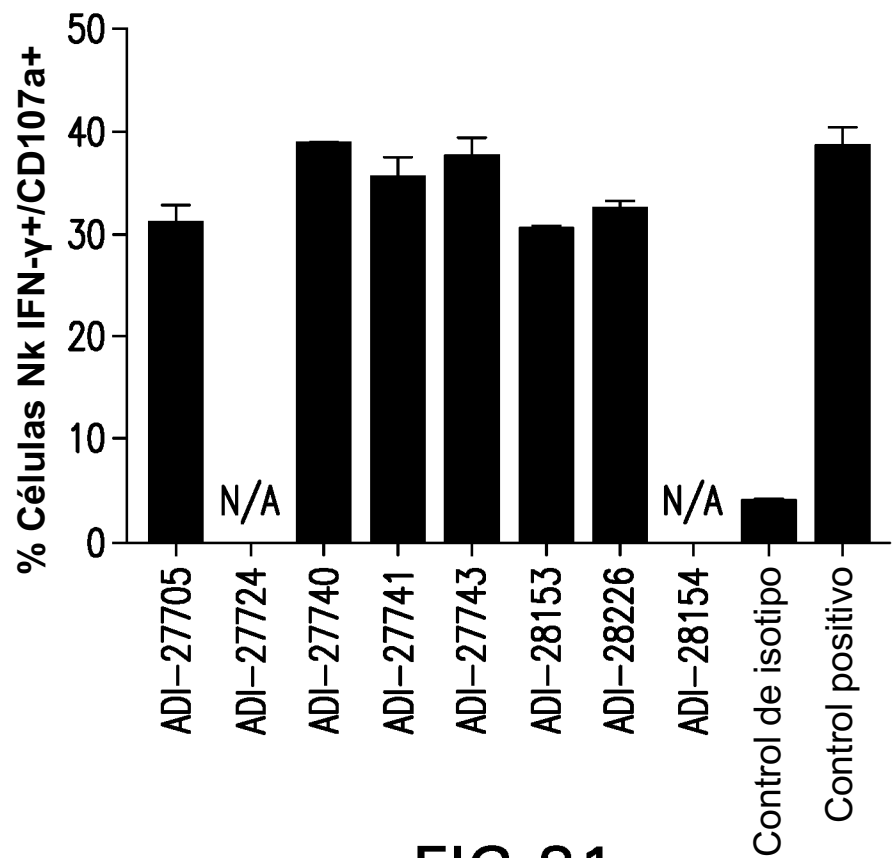


FIG.31

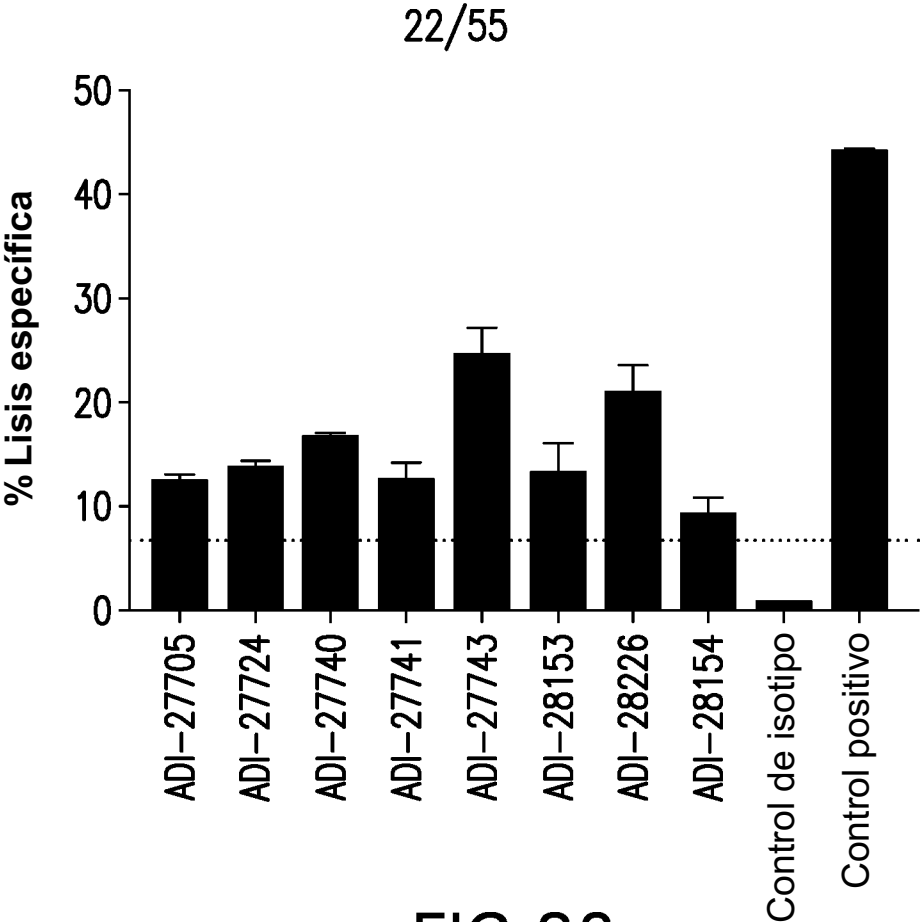


FIG.32

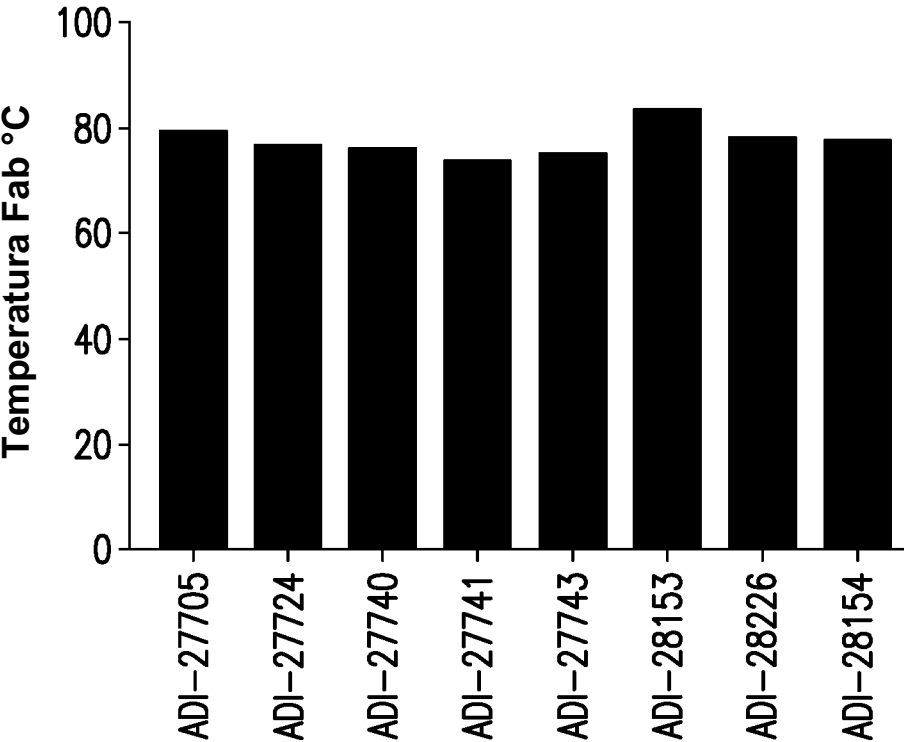


FIG.33

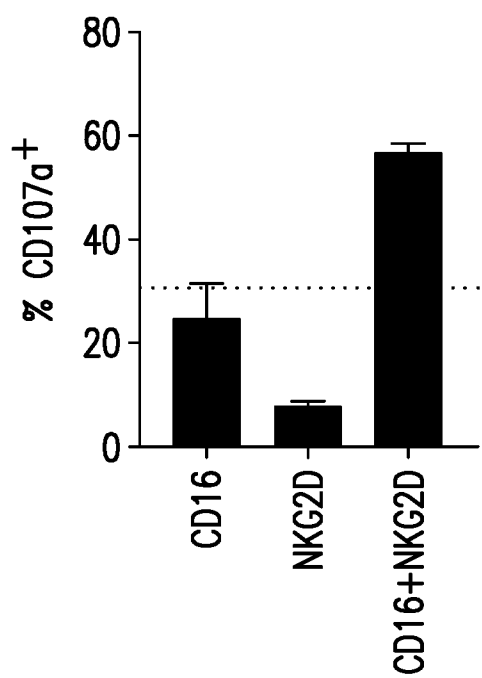


FIG.34A

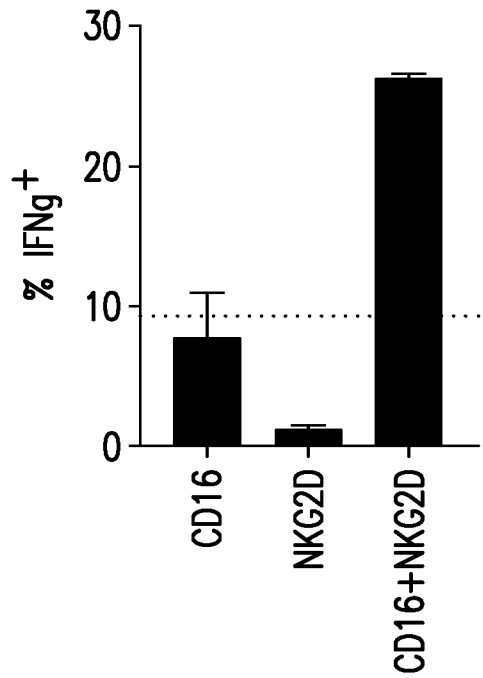


FIG.34B

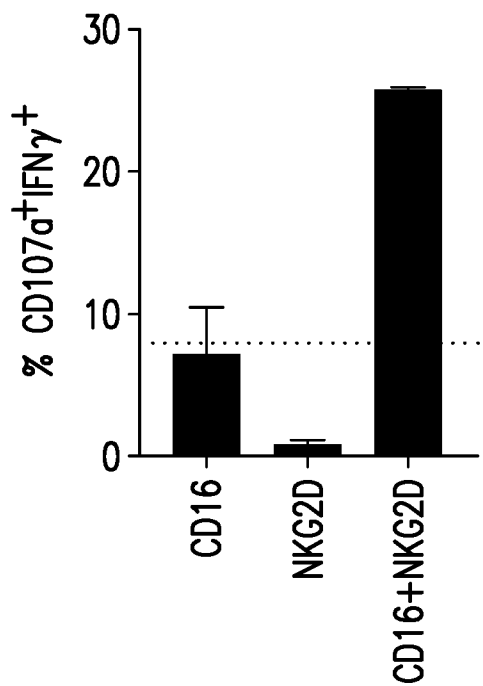


FIG.34C

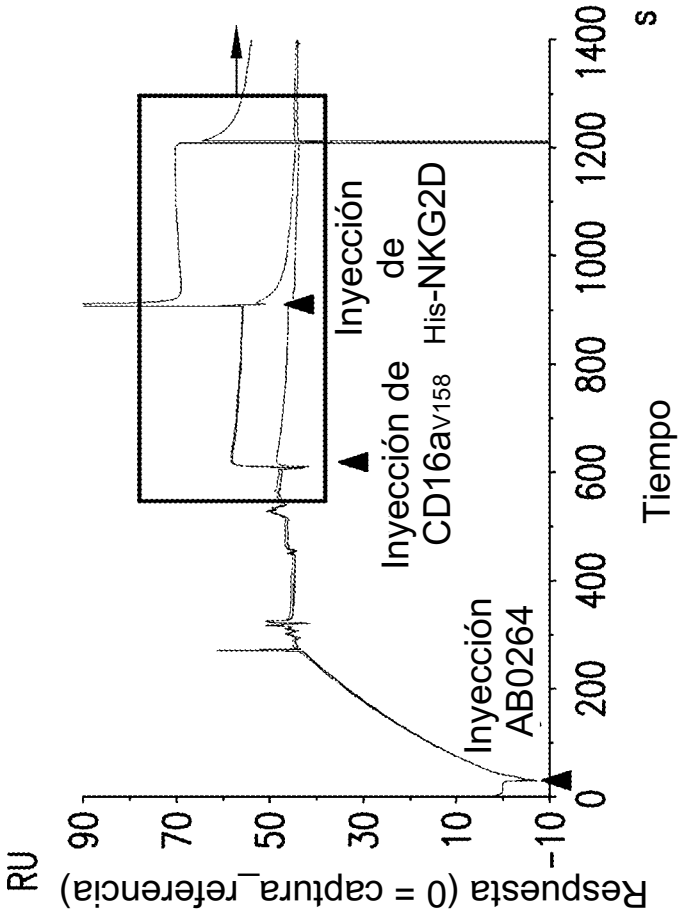


FIG. 35A

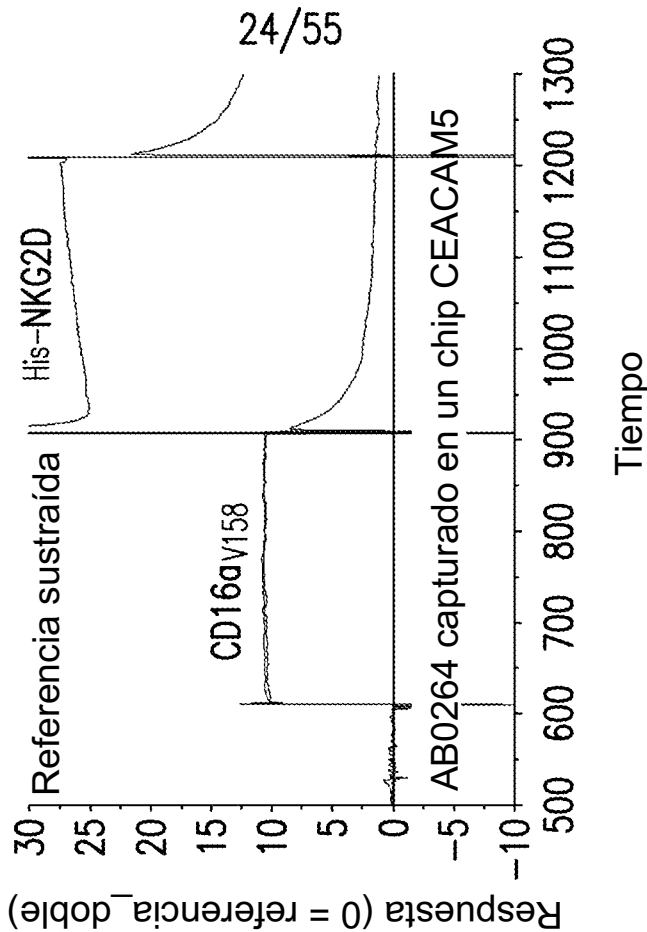


FIG. 35B

25/55

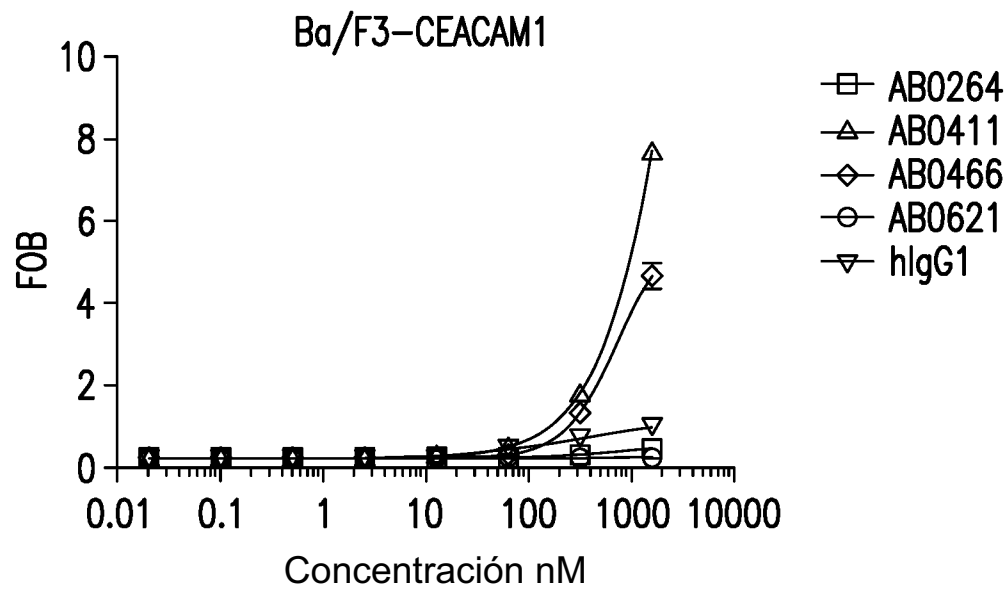


FIG.36A

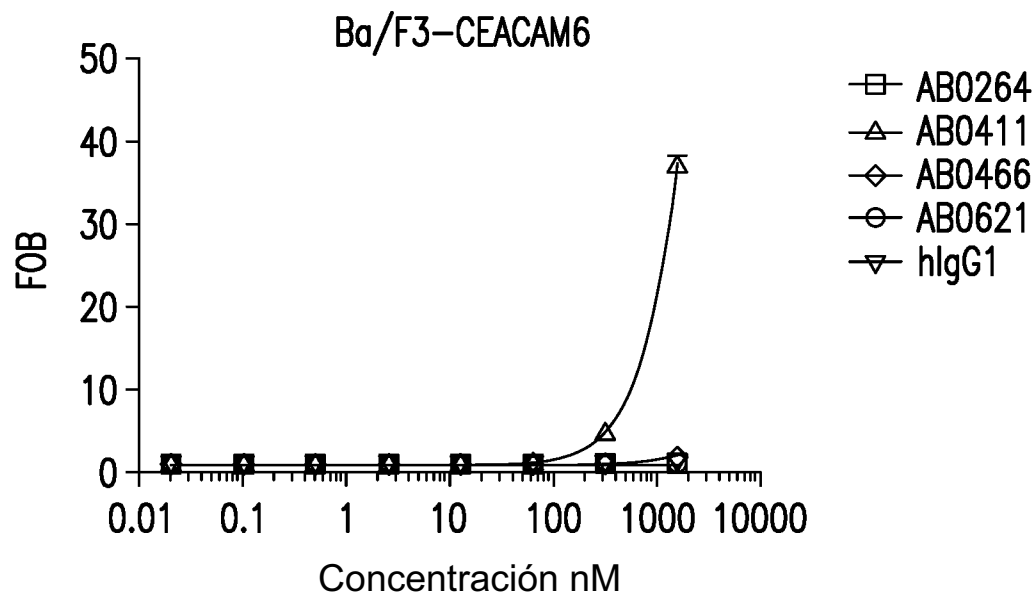


FIG.36B

26/55

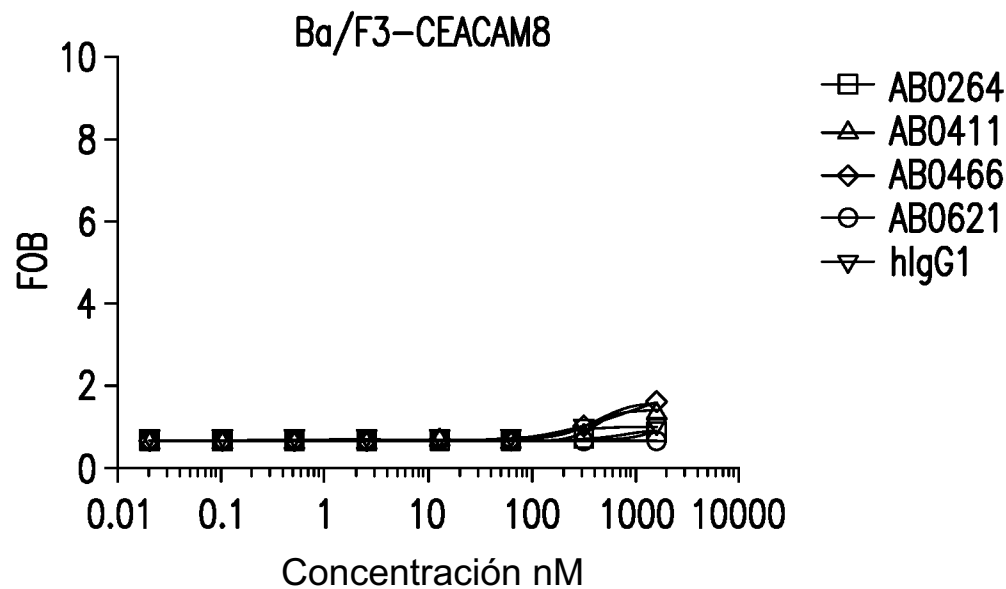


FIG.36C

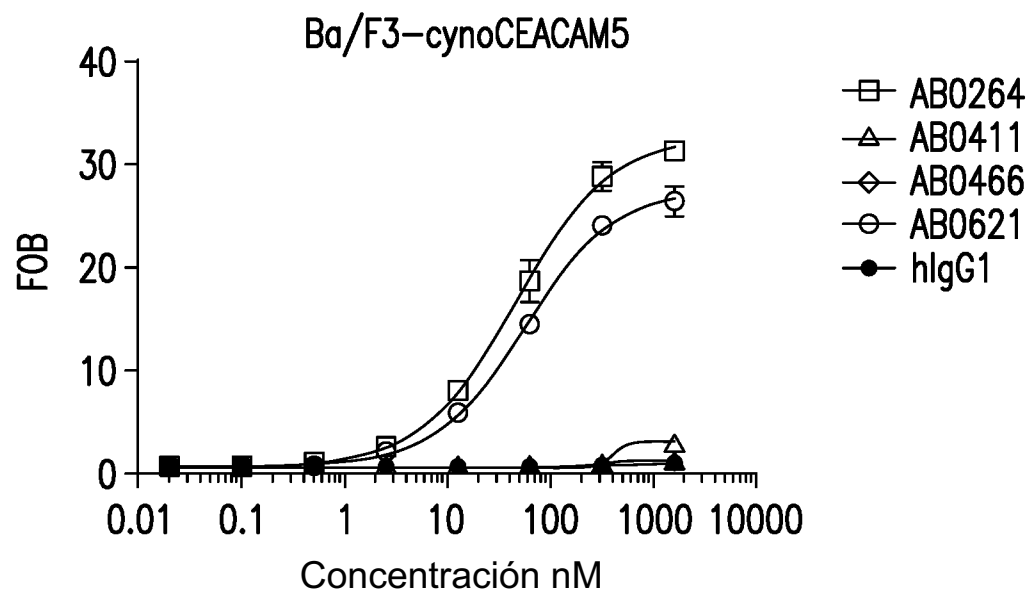


FIG.36D

27/55

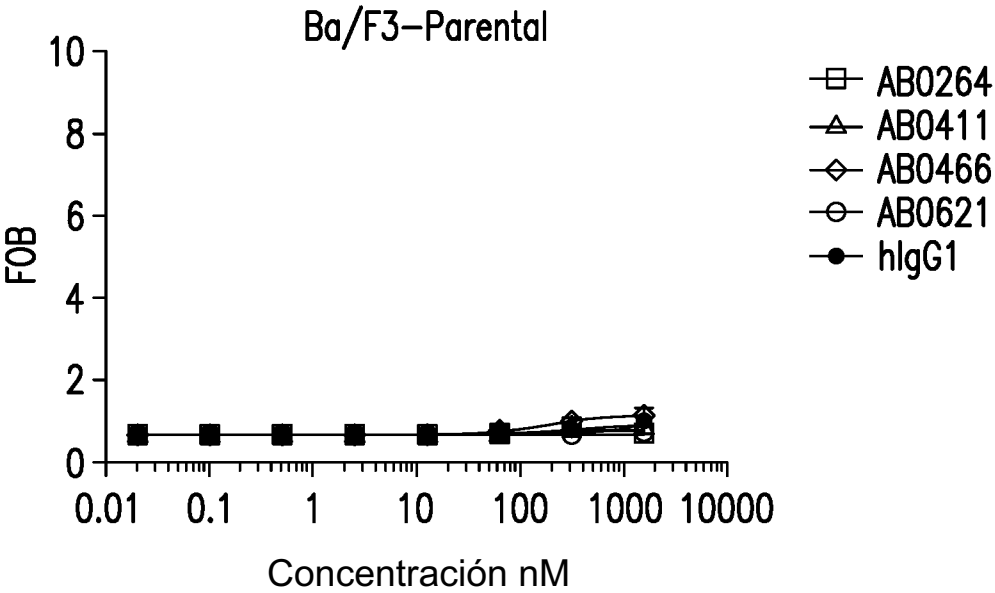


FIG.36E

28/55

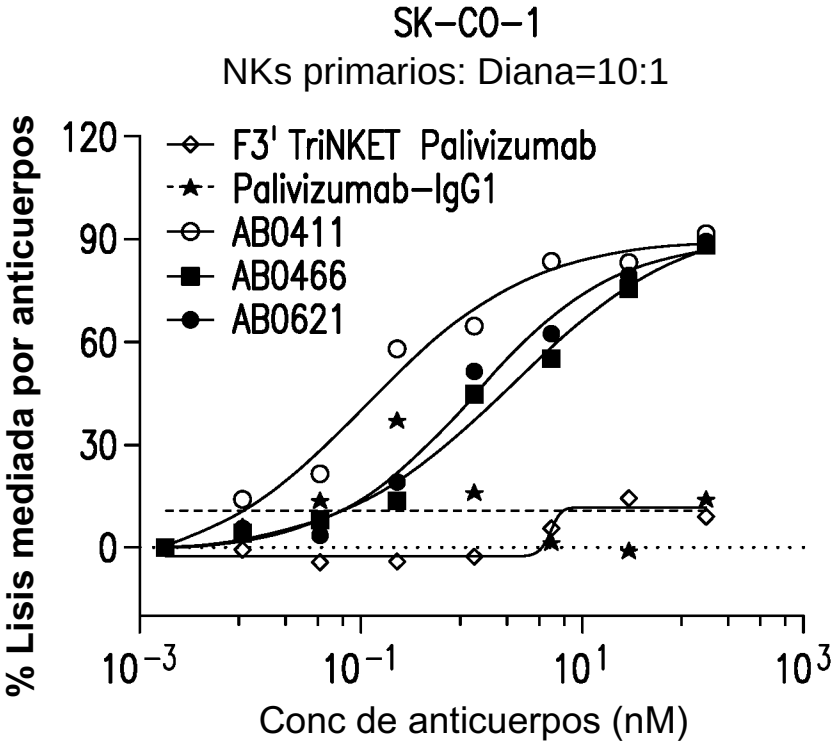


FIG.37A

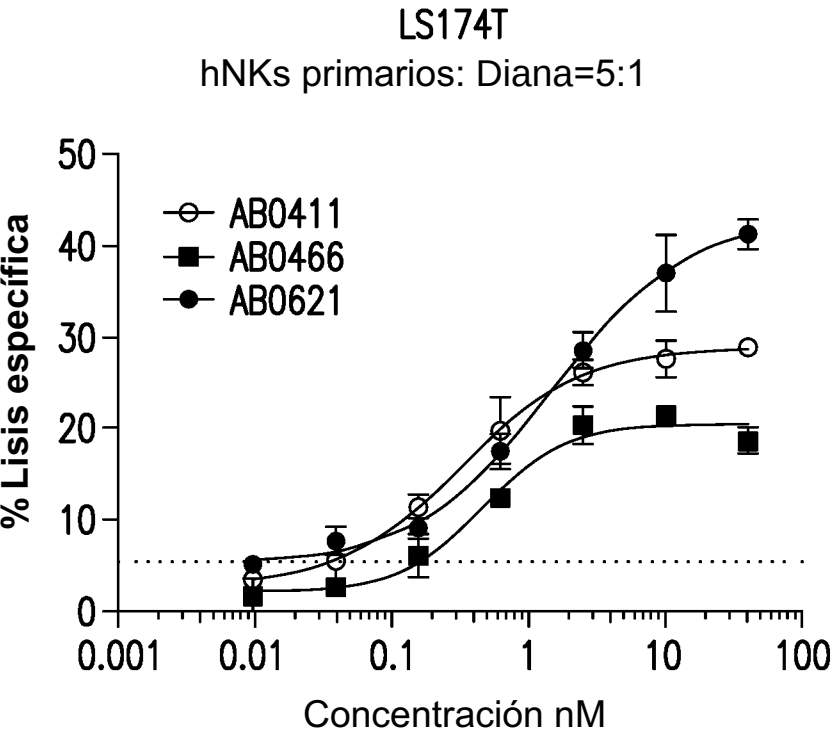


FIG.37B

29/55

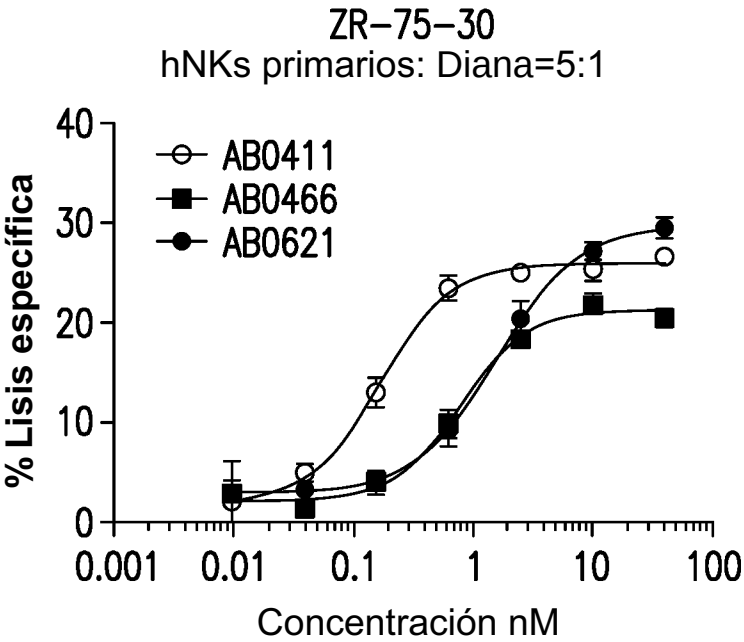


FIG.37C

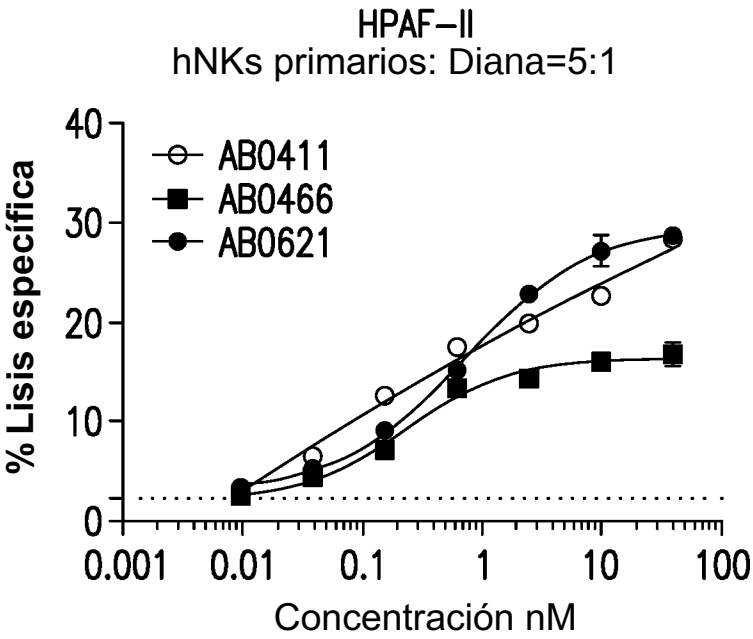


FIG.37D

30/55

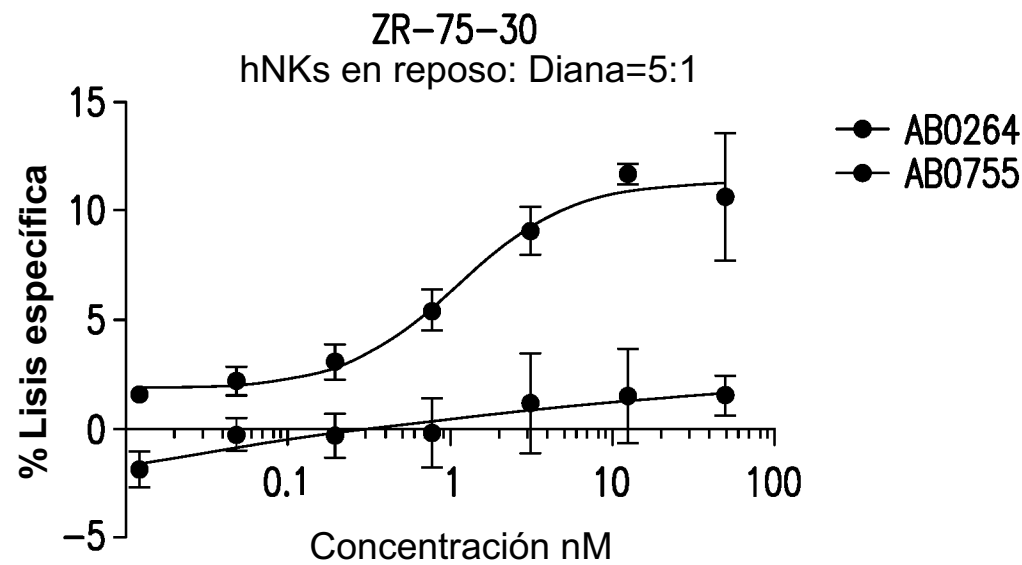


FIG.38A

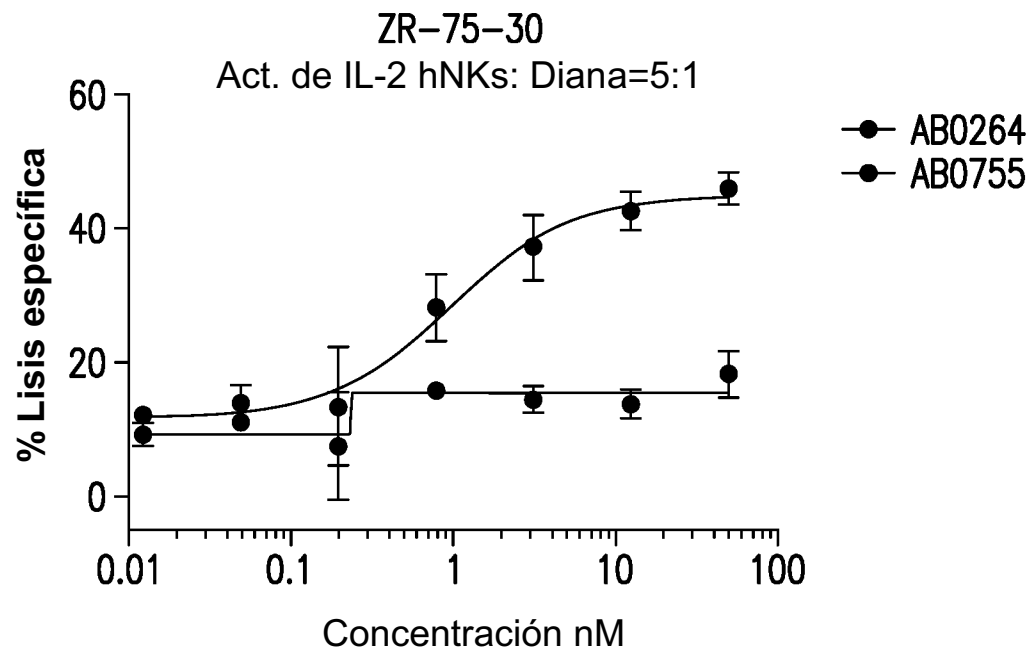


FIG.38B

31/55

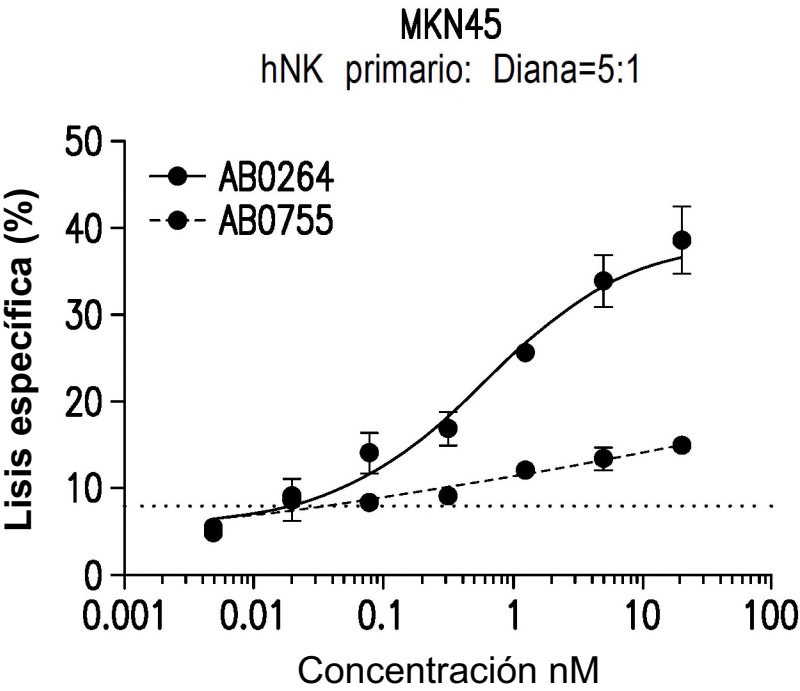


FIG.39A

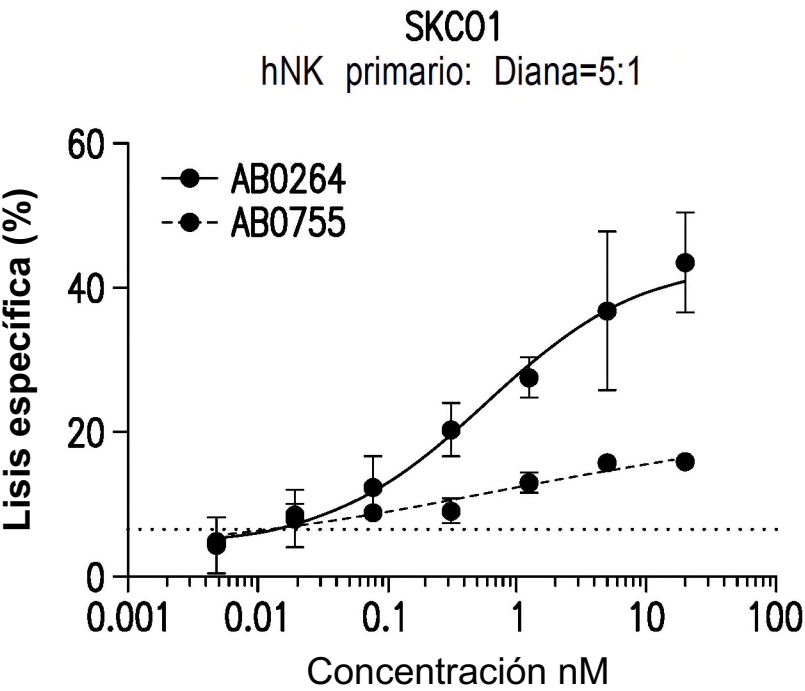


FIG.39B

32/55

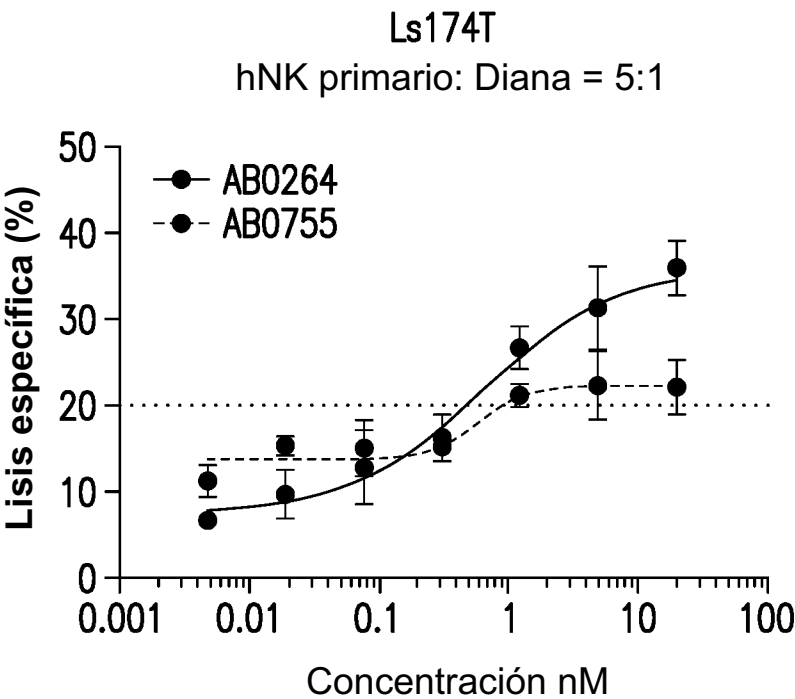


FIG.39C

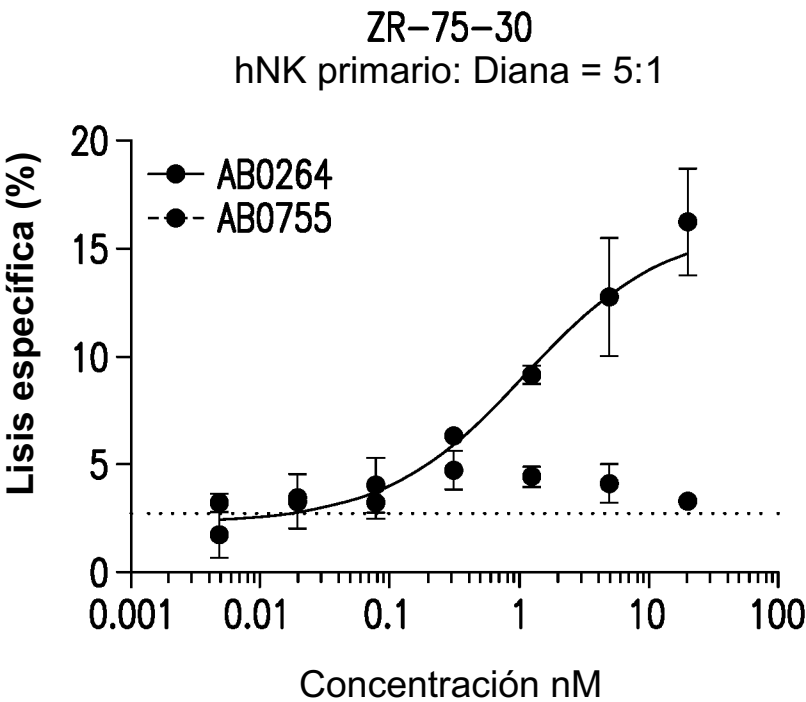


FIG.39D

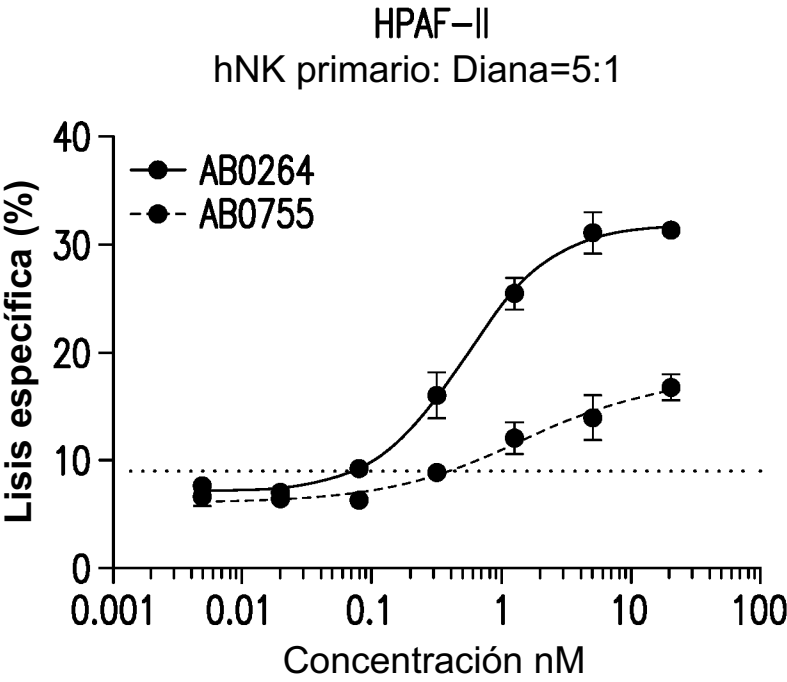


FIG.39E

34/55

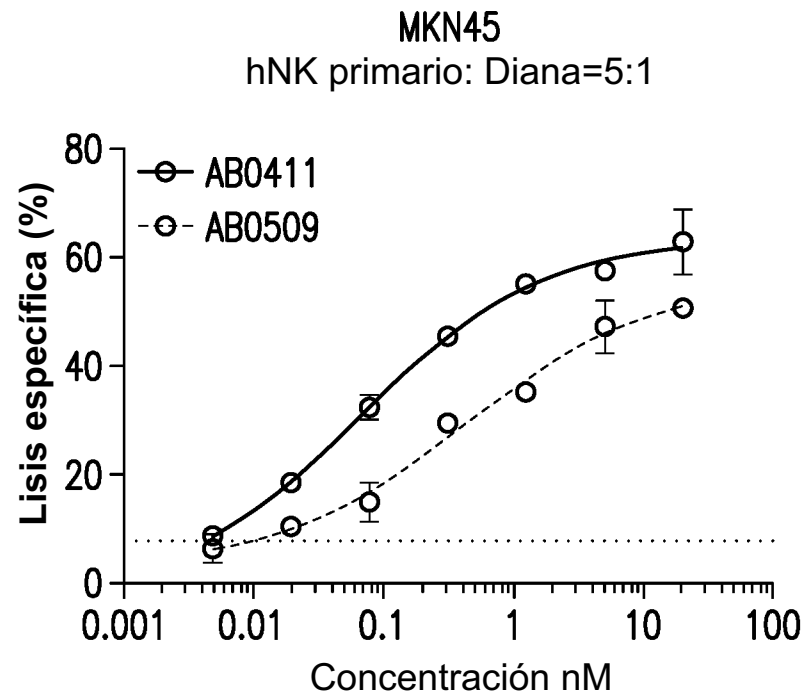


FIG.40A

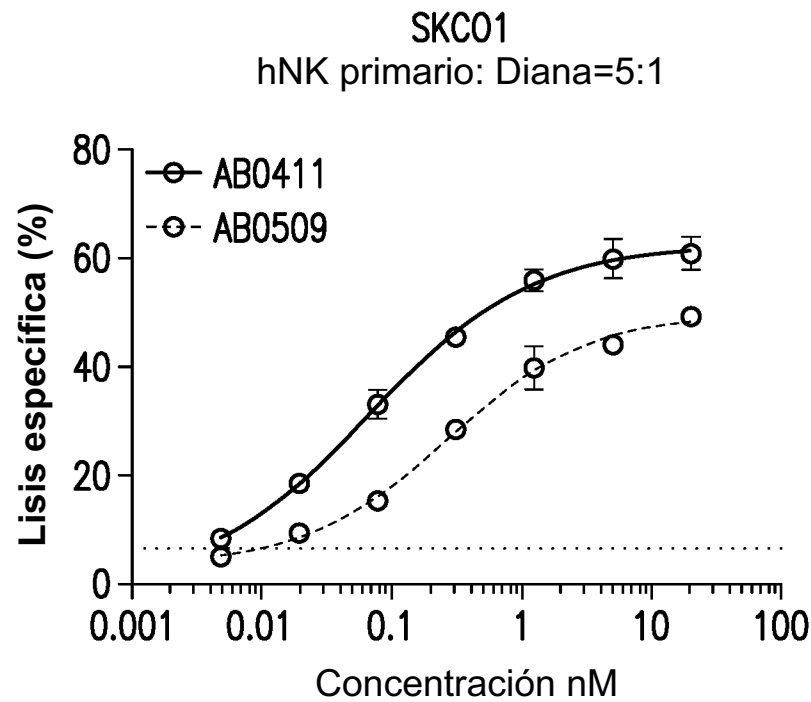


FIG.40B

35/55

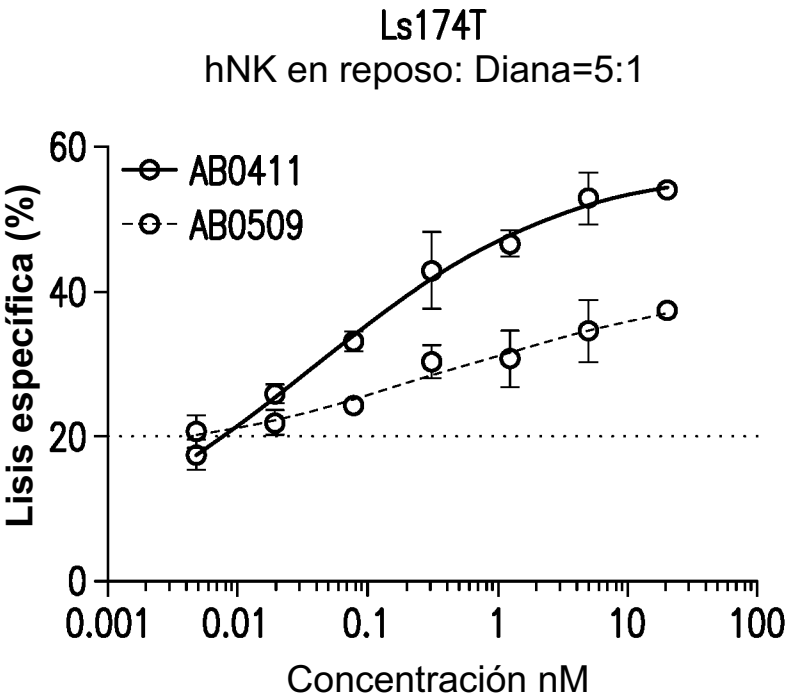


FIG.40C

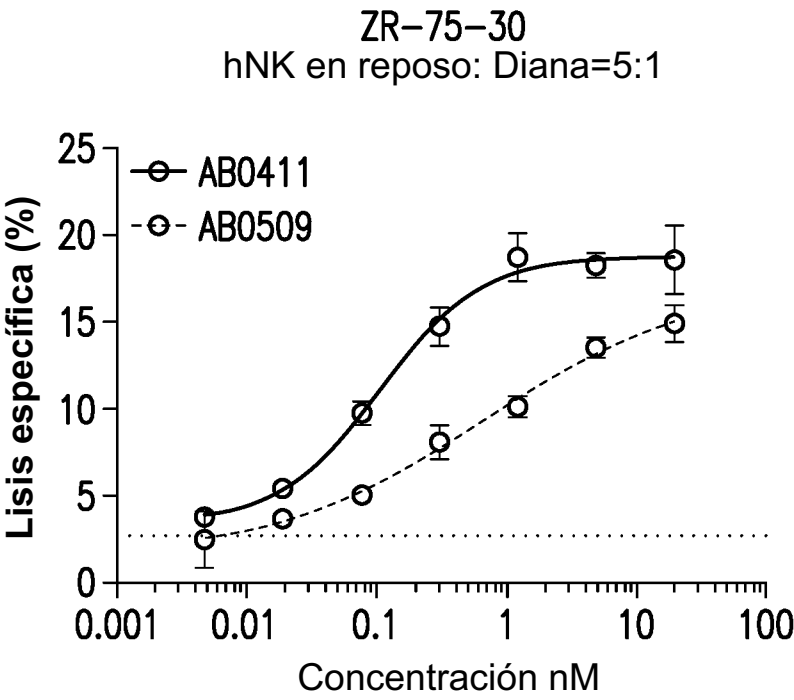


FIG.40D

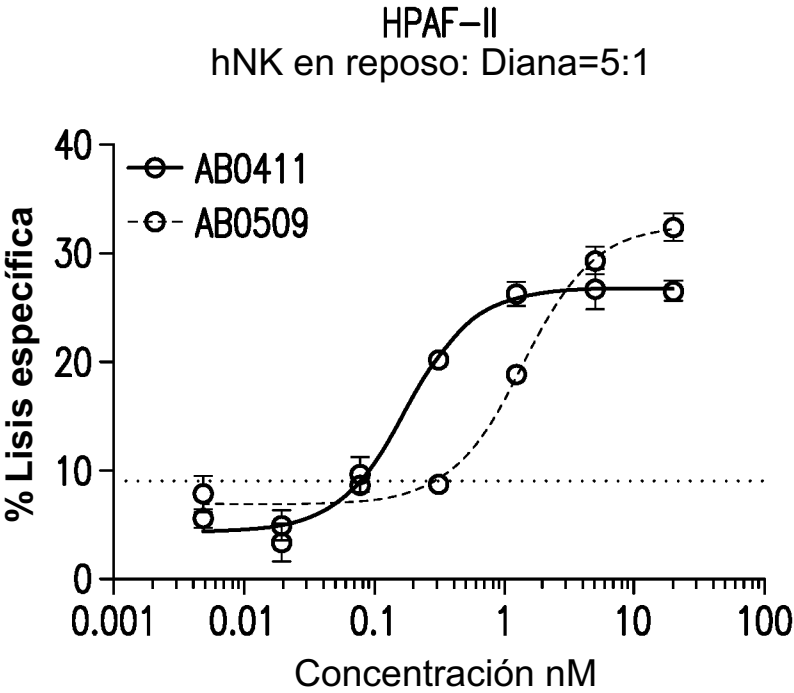


FIG.40E

37/55

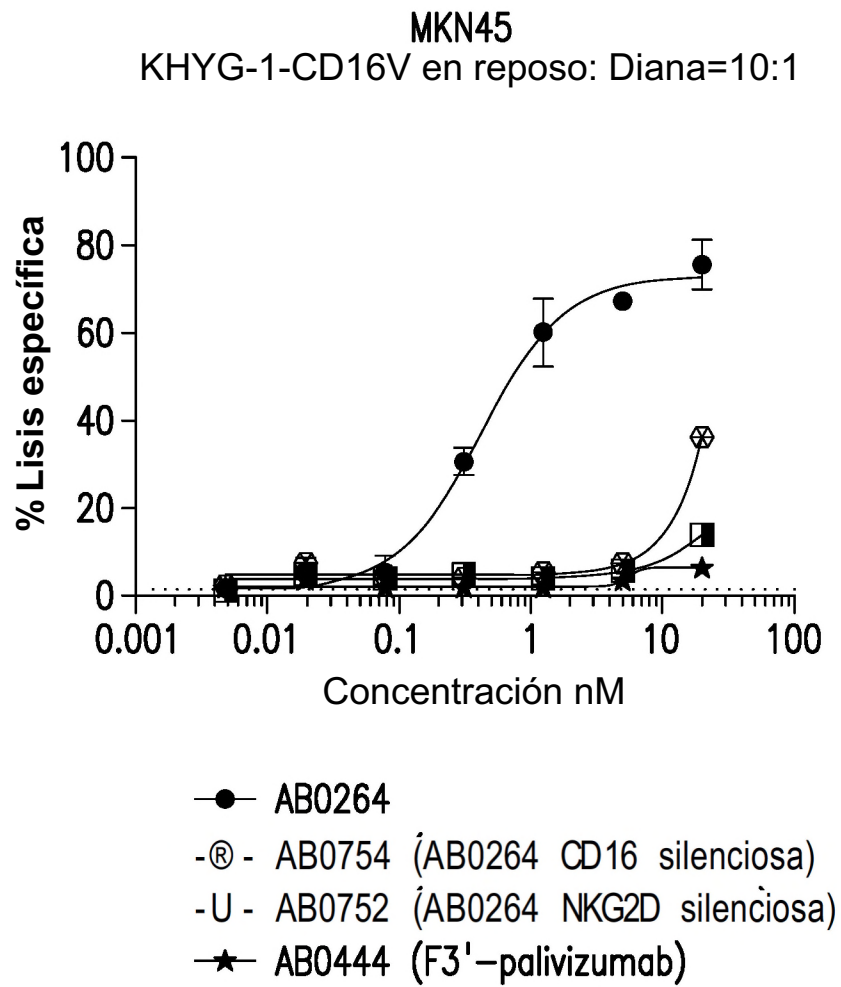


FIG.41

38/55

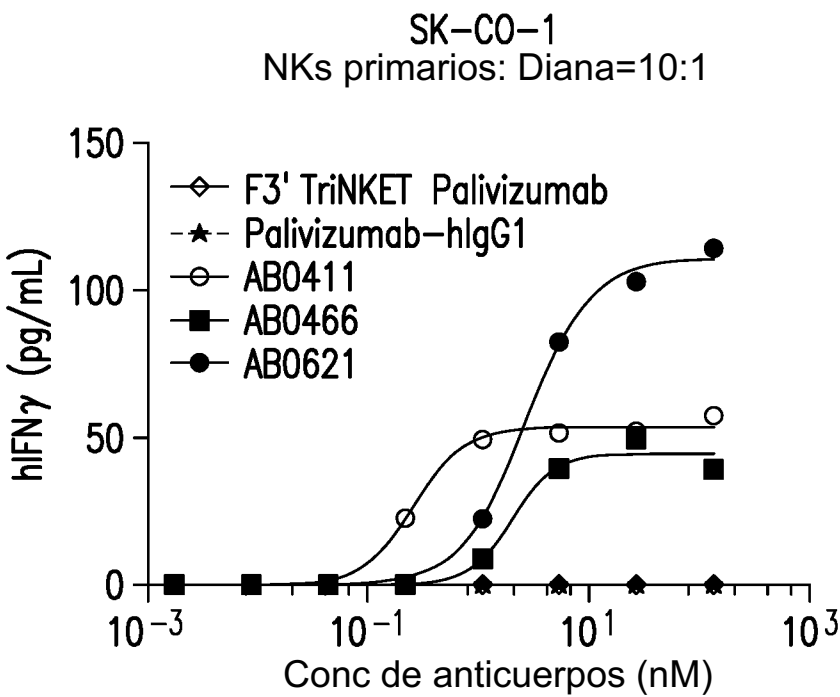


FIG.42A

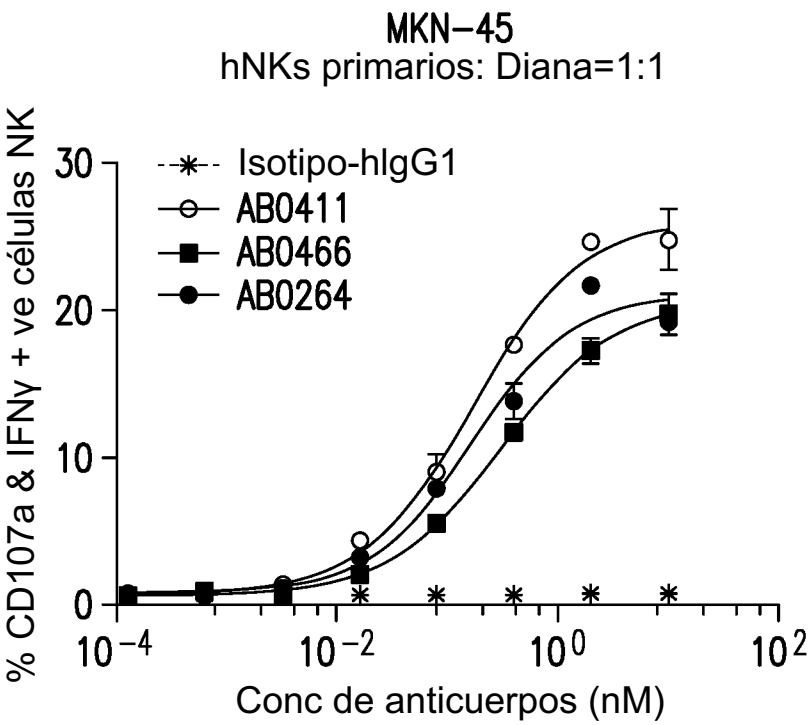


FIG.42B

39/55

MKN45
PBMC de cyno: Diana=5:1

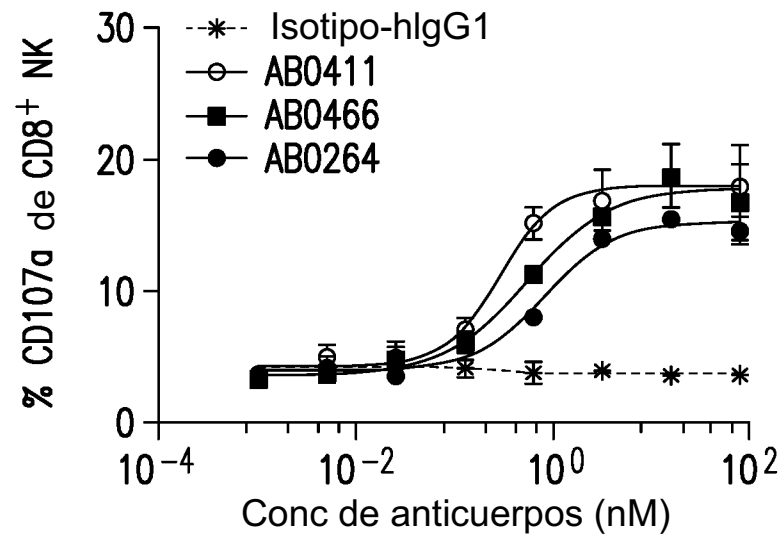


FIG.42C

SK-CO-1
PBMC de cyno: Diana=5:1

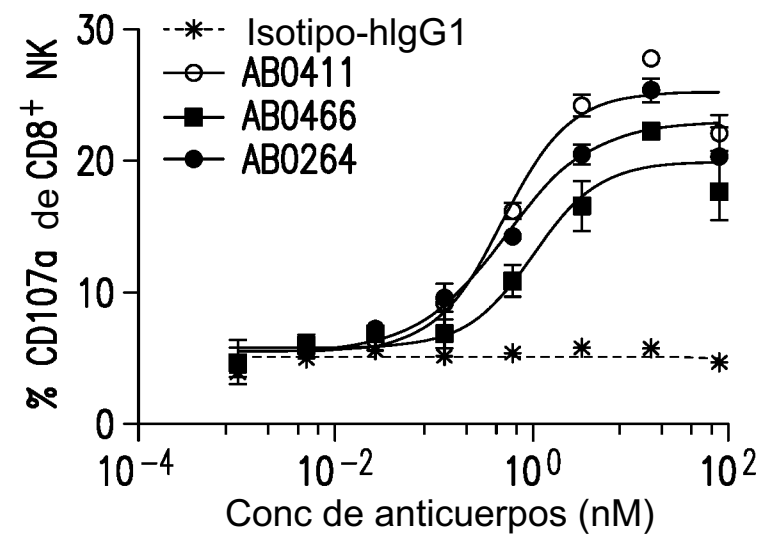


FIG.42D

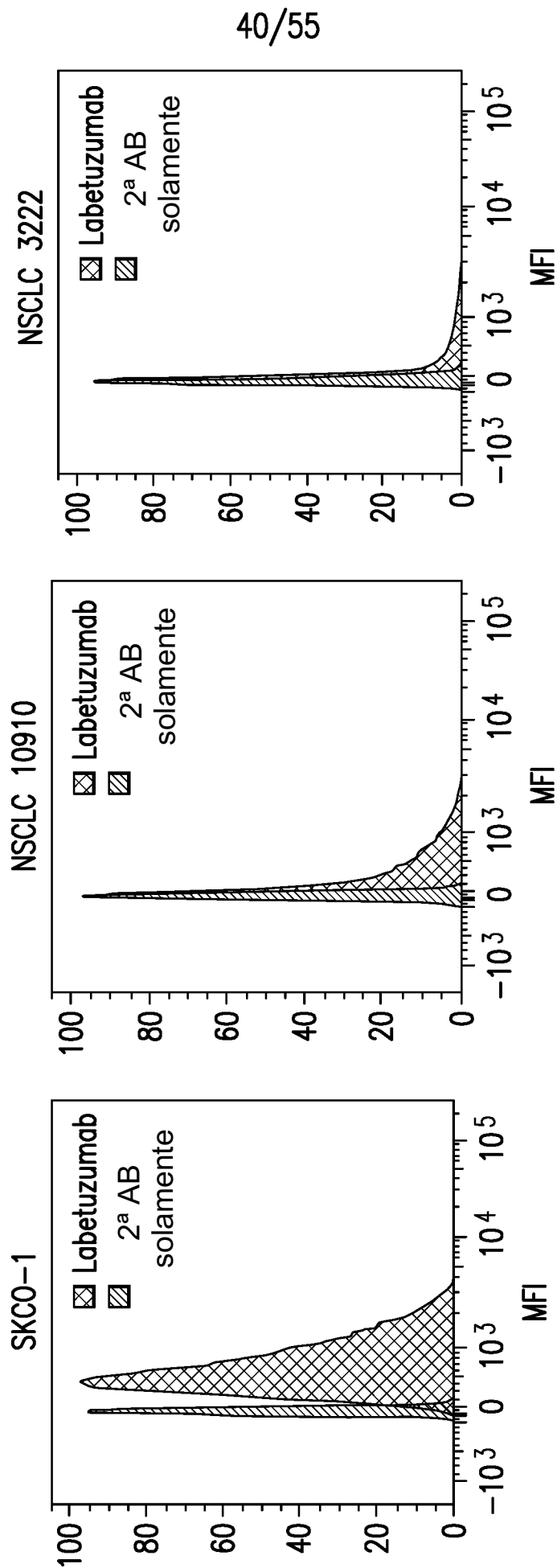


FIG.43A

41/55

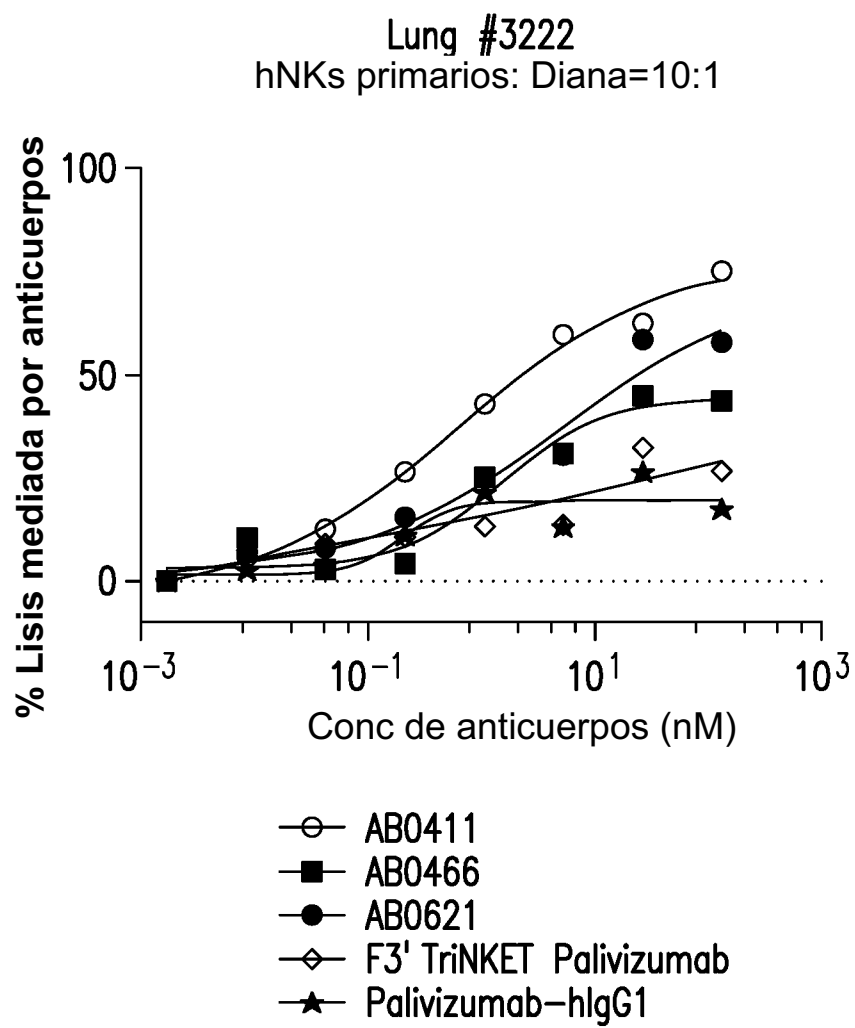


FIG.43B

42/55

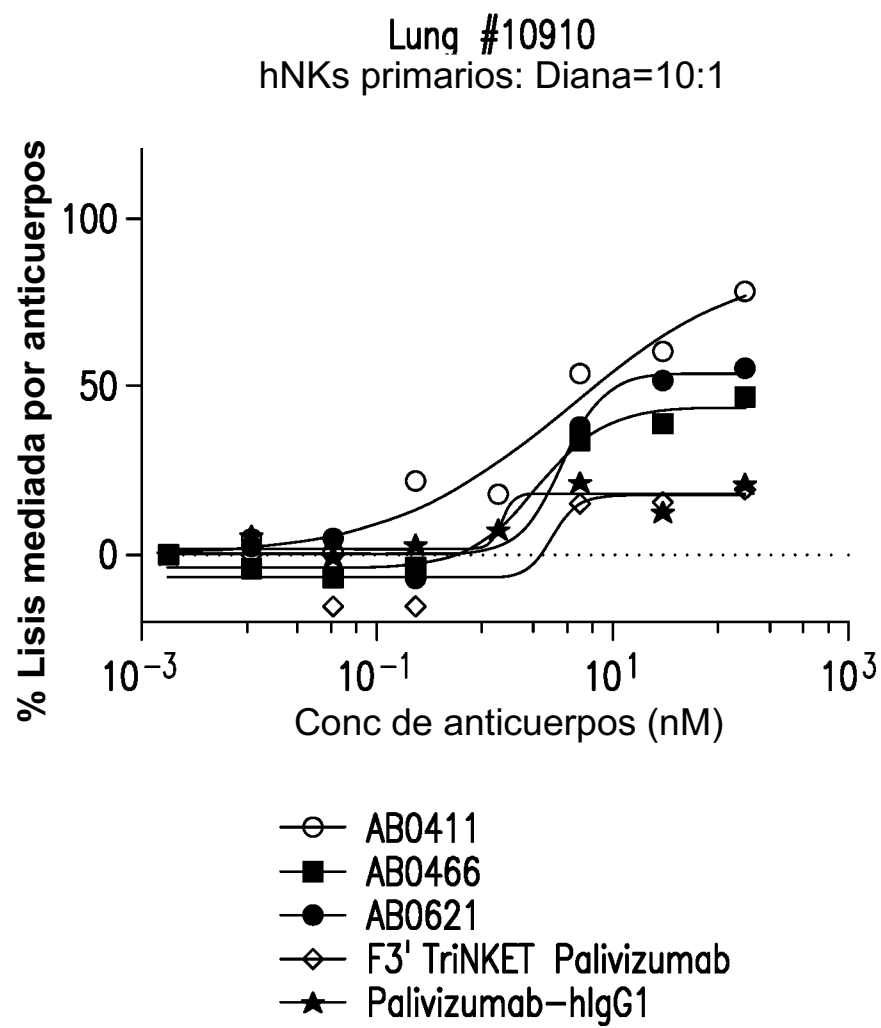


FIG.43C

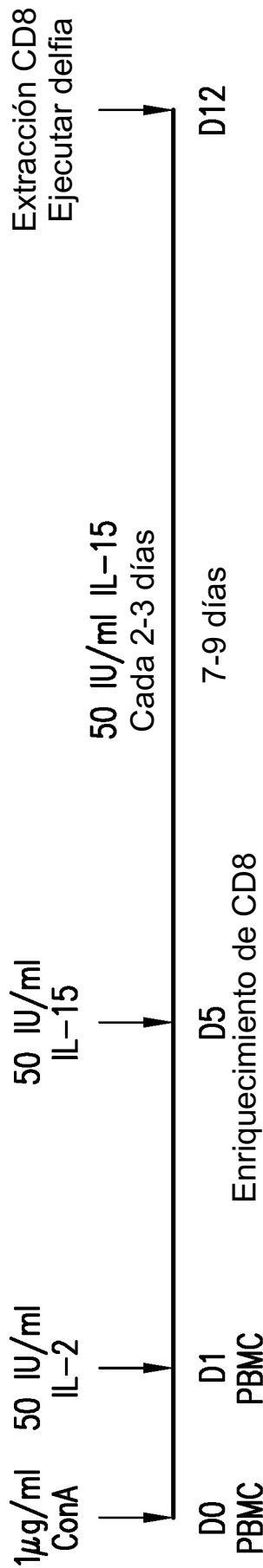


FIG.44A

43/55

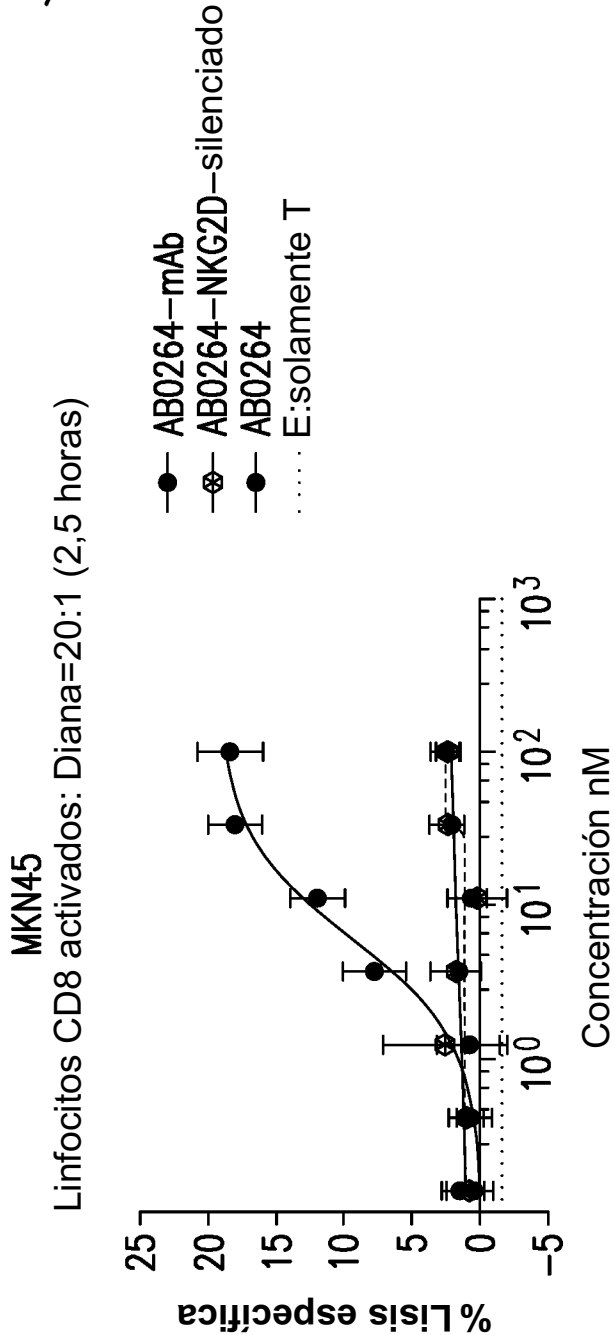


FIG.44B

44/55

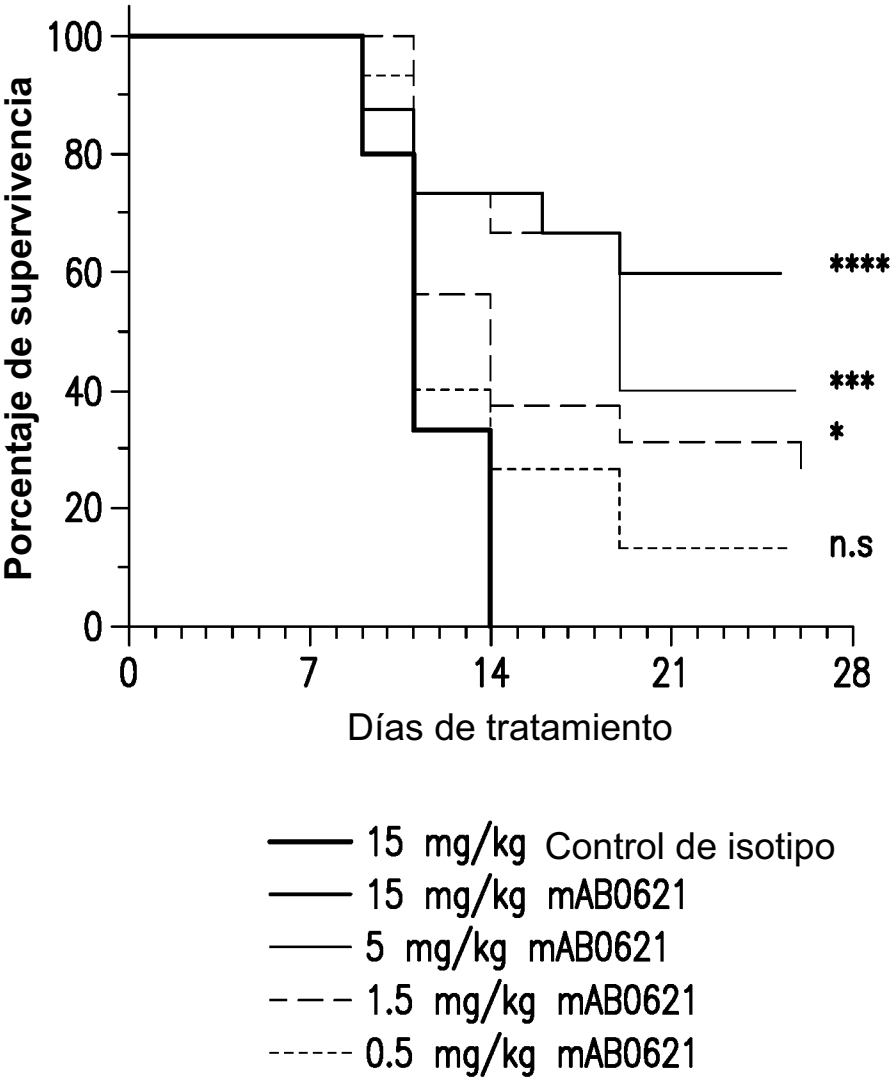


FIG.45

45/55

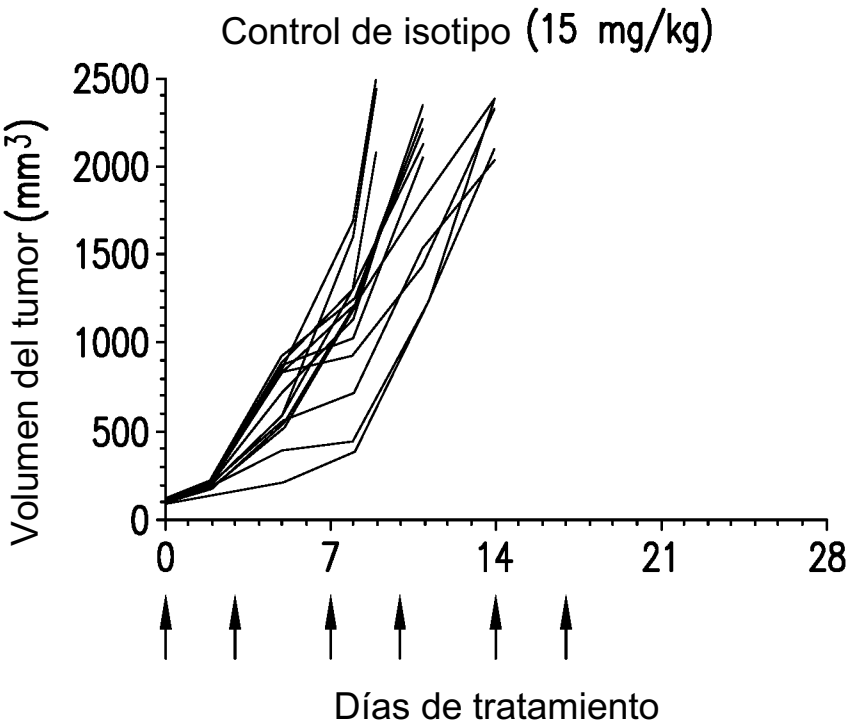


FIG.46A

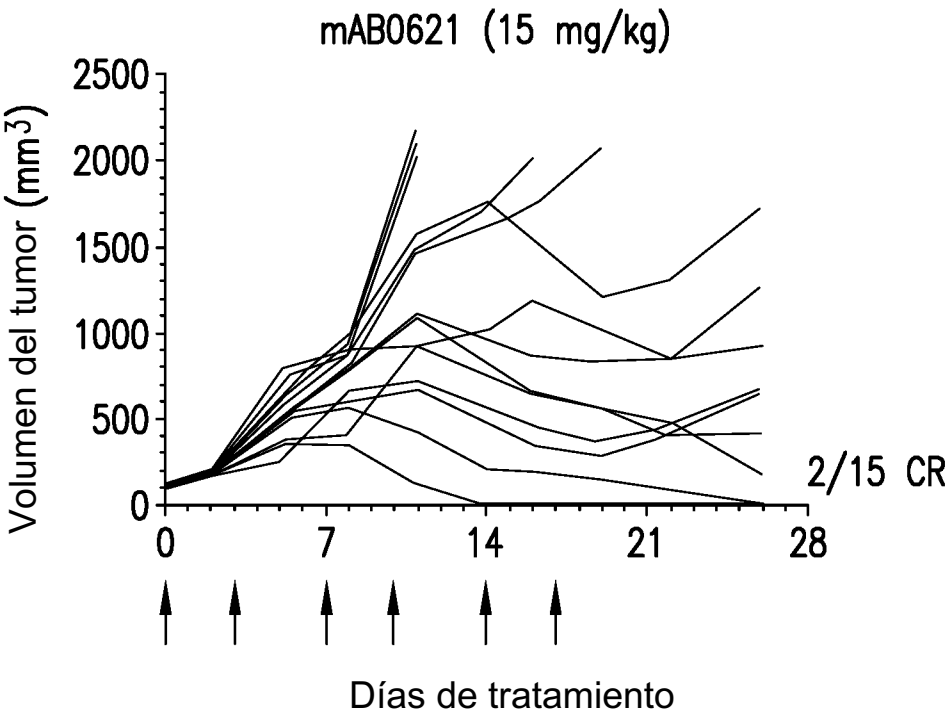


FIG.46B

46/55

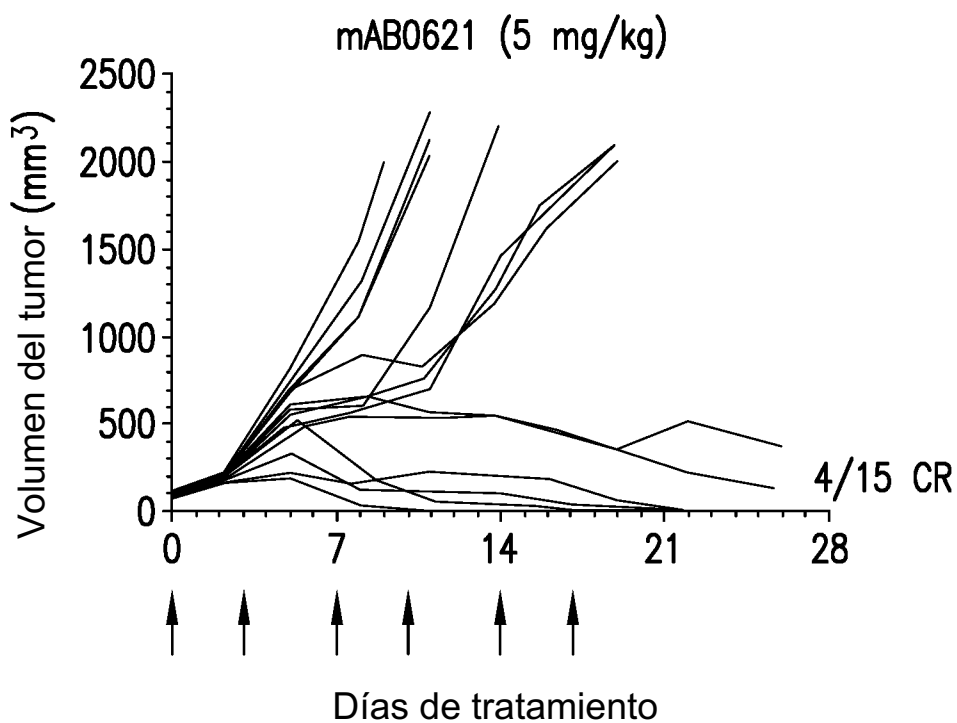


FIG.46C

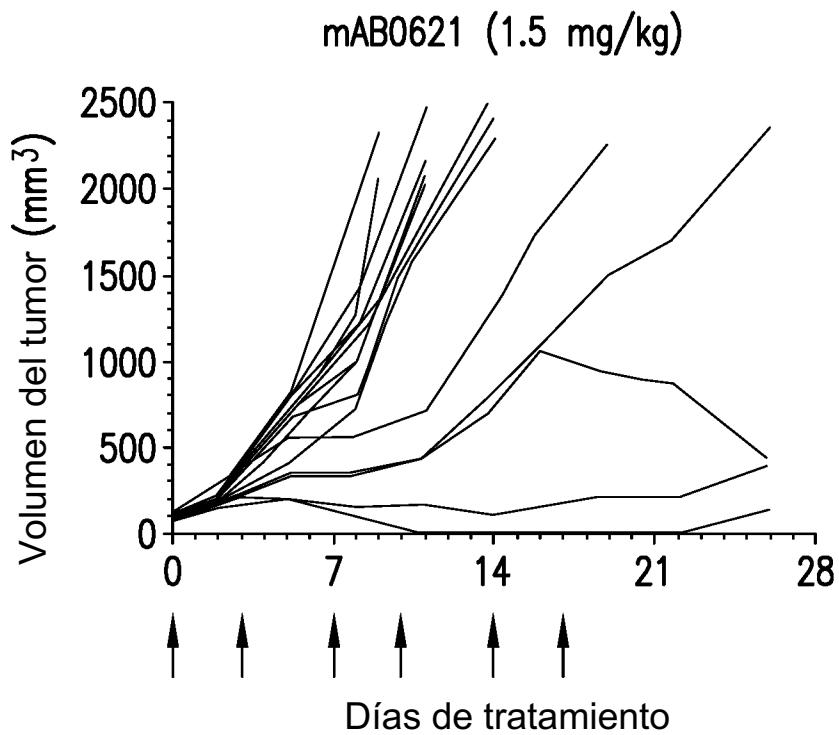


FIG.46D

47/55

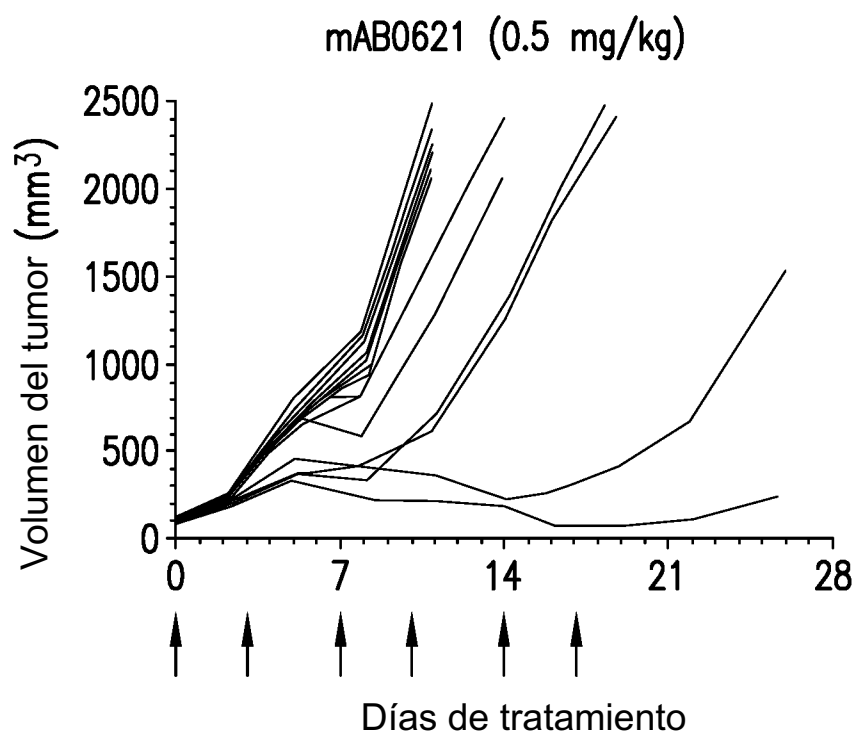


FIG.46E

48/55

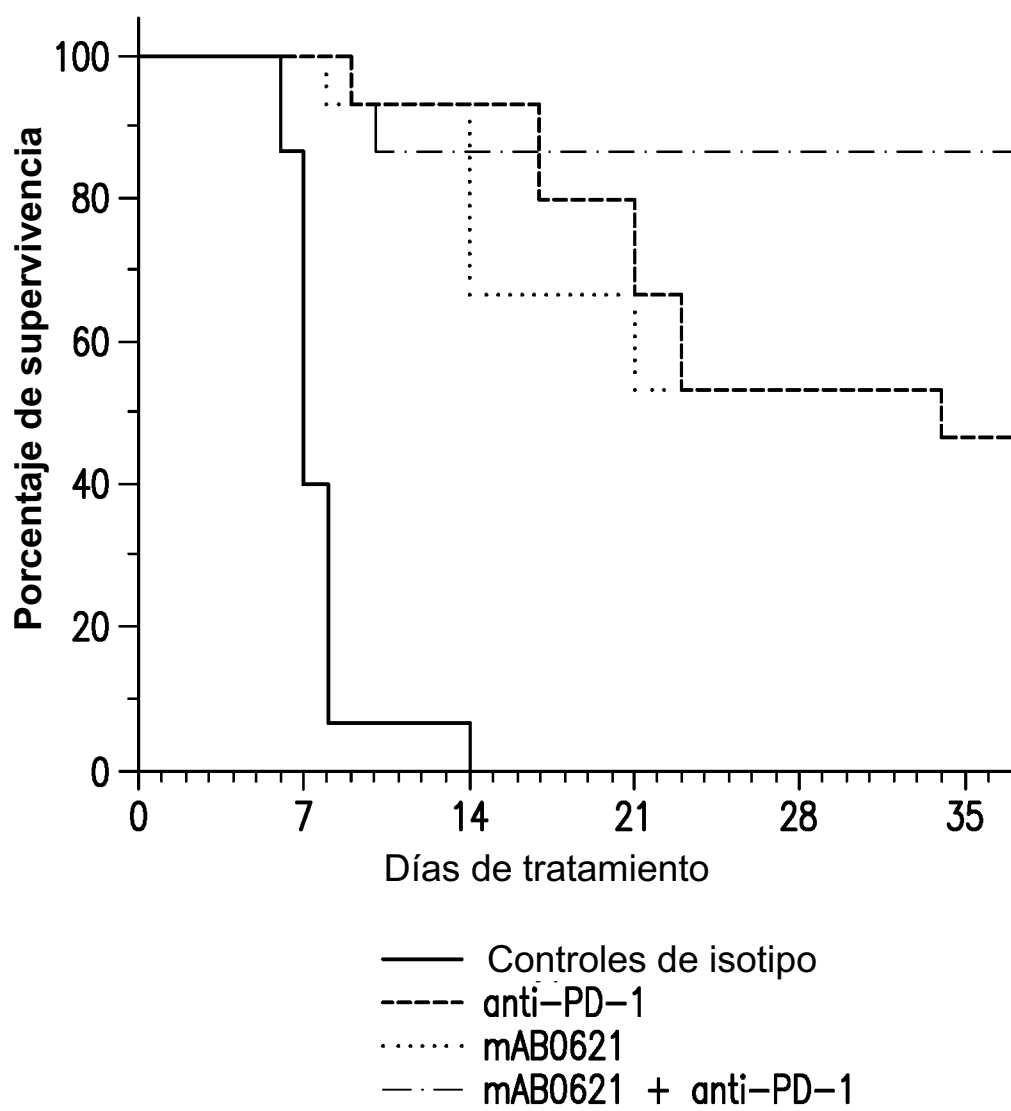


FIG.47

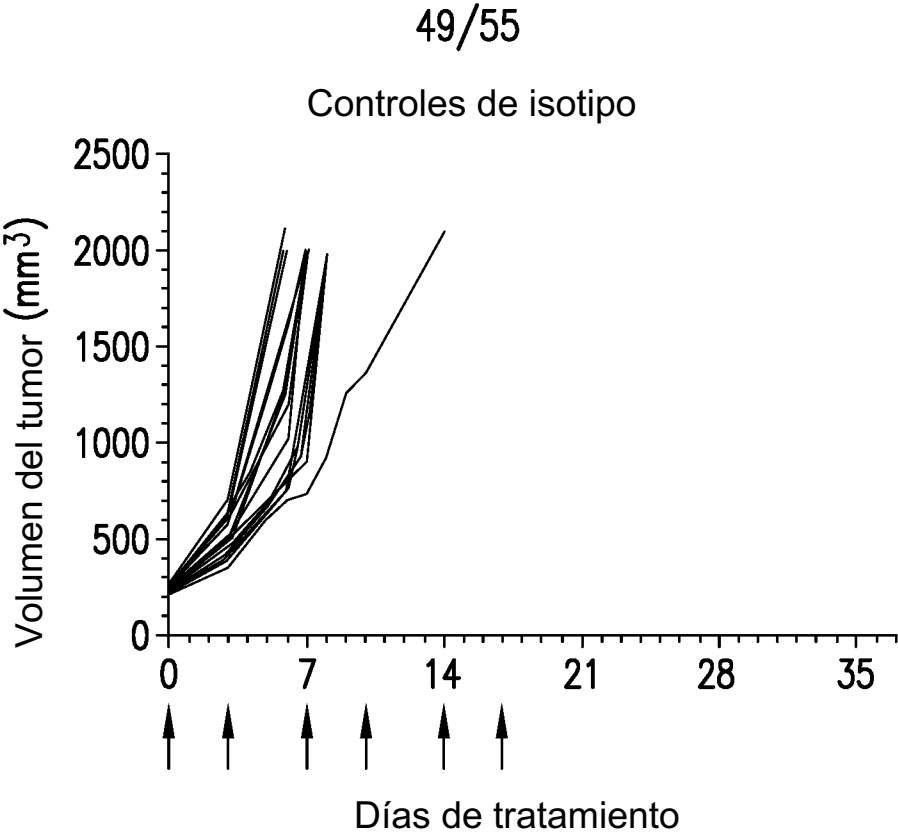


FIG.48A

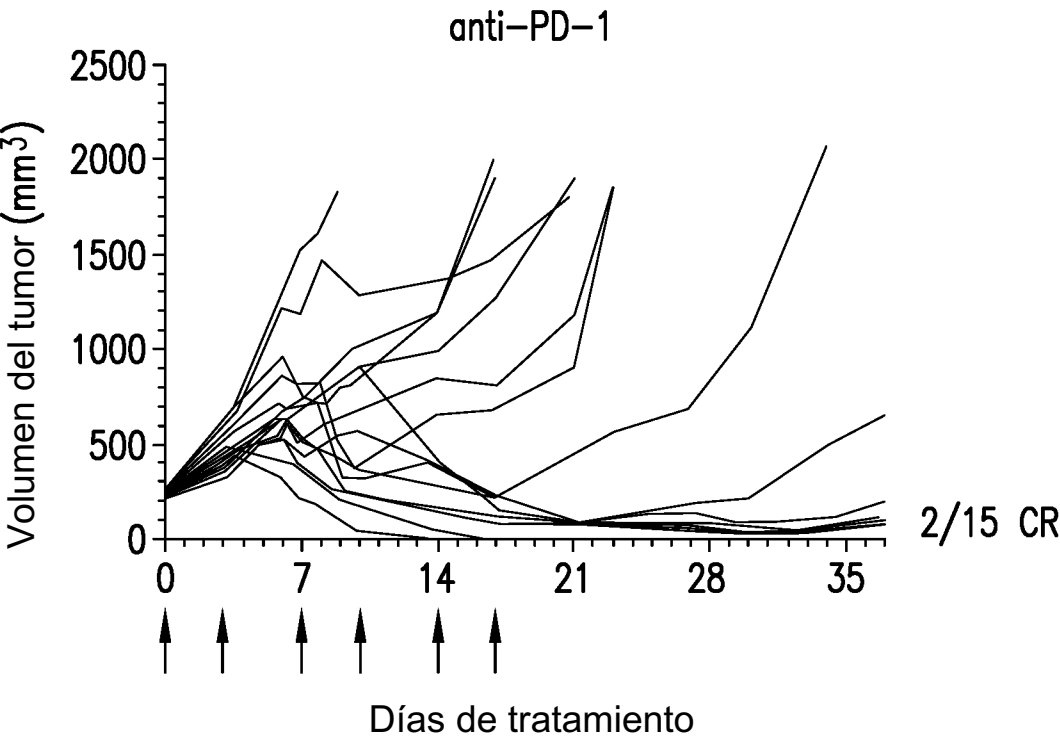


FIG.48B

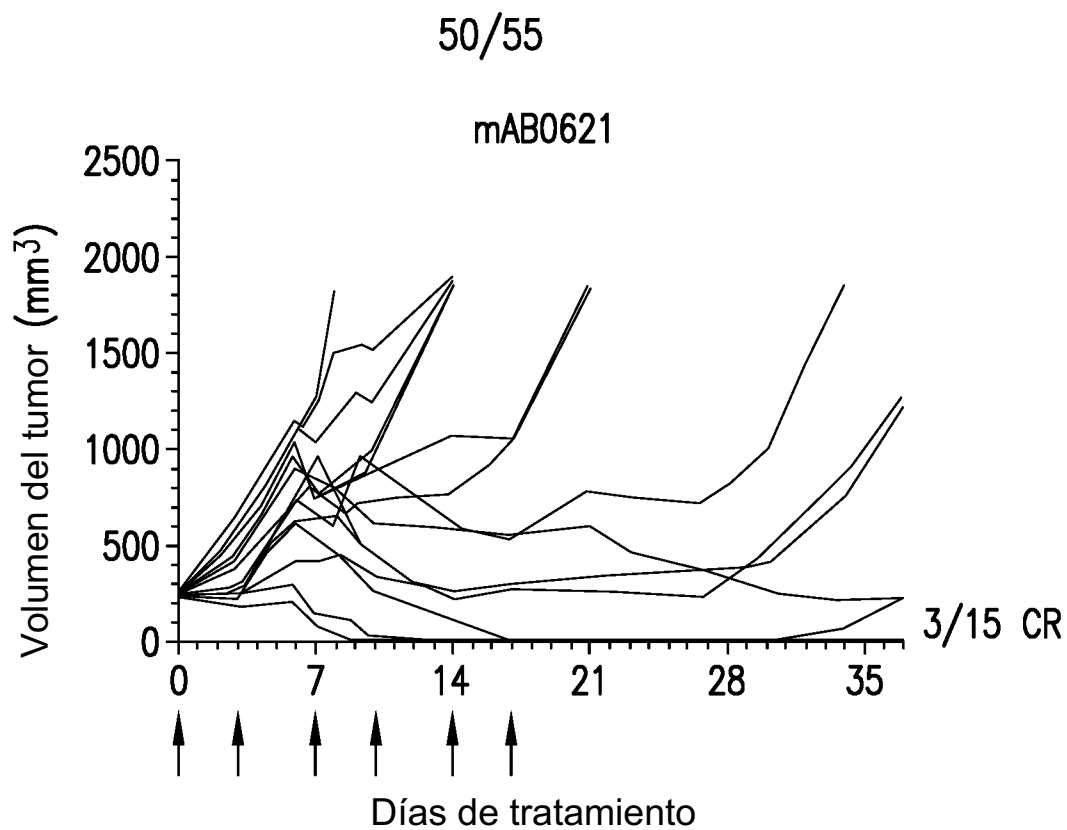


FIG.48C

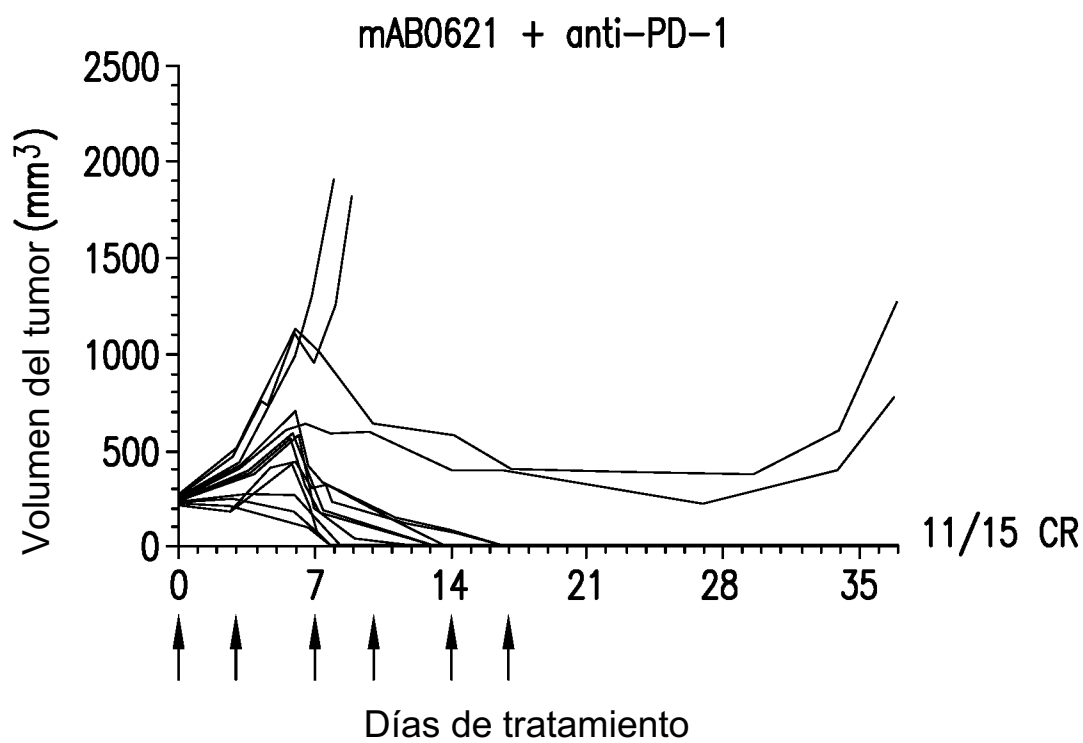


FIG.48D

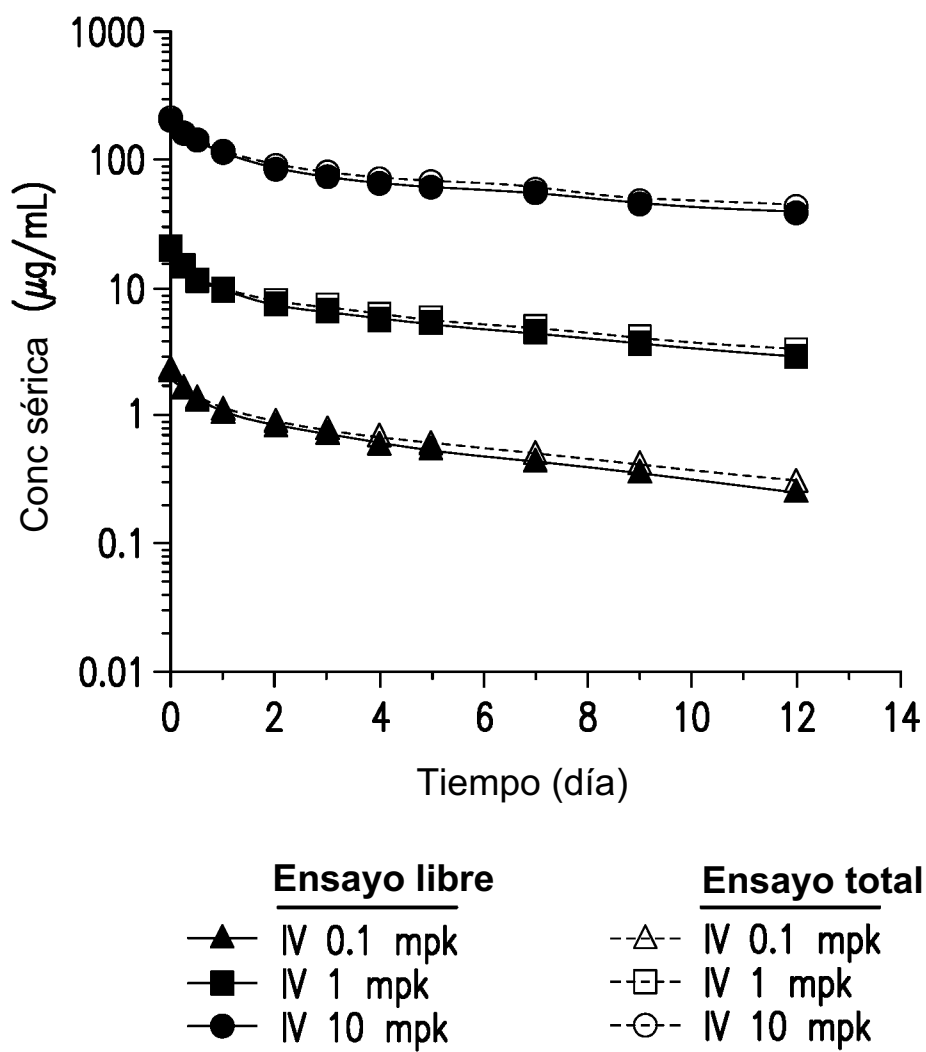


FIG.49A

52/55

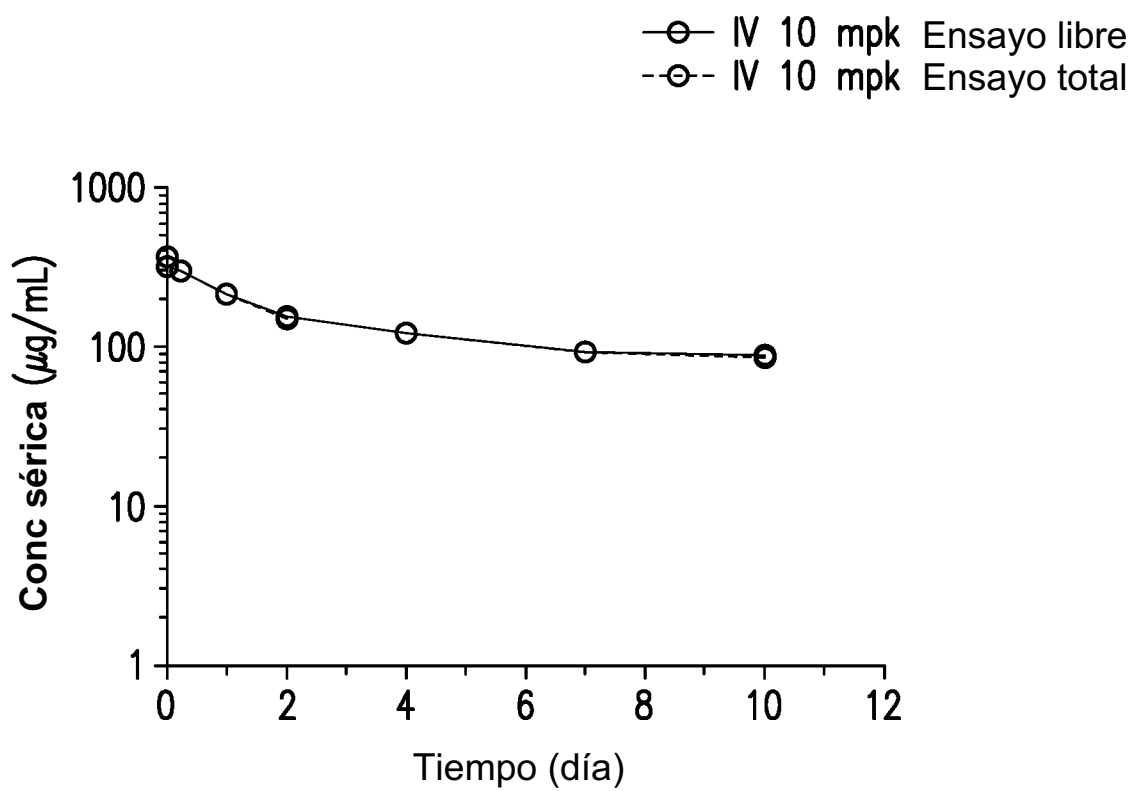


FIG.49B

53/55

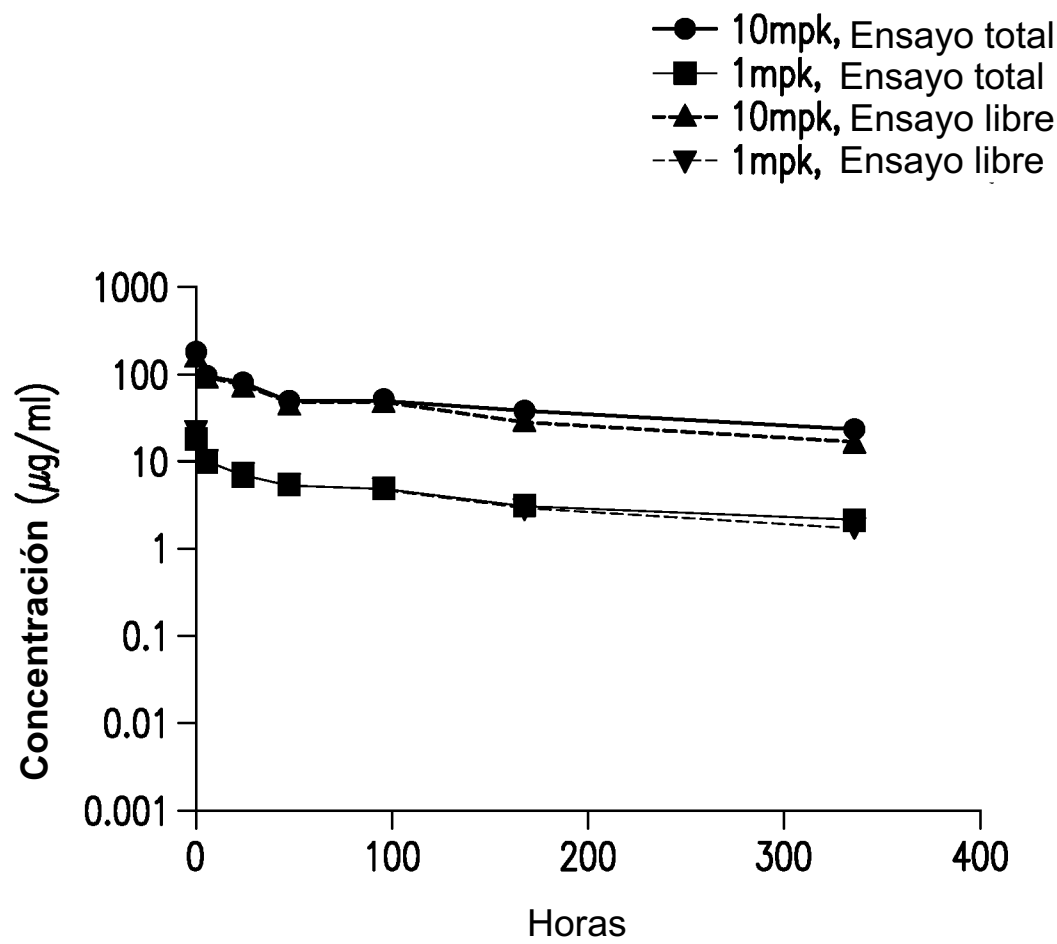


FIG.50A

54/55

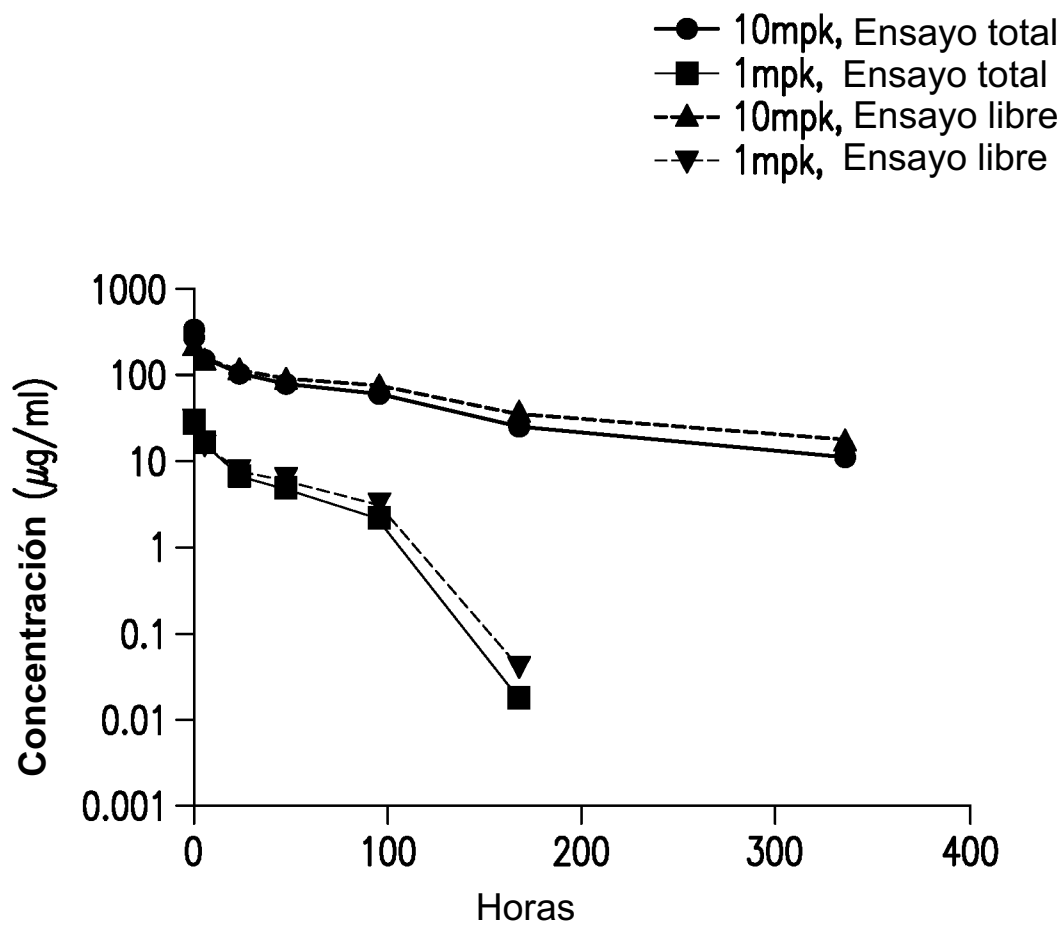


FIG.50B

55/55

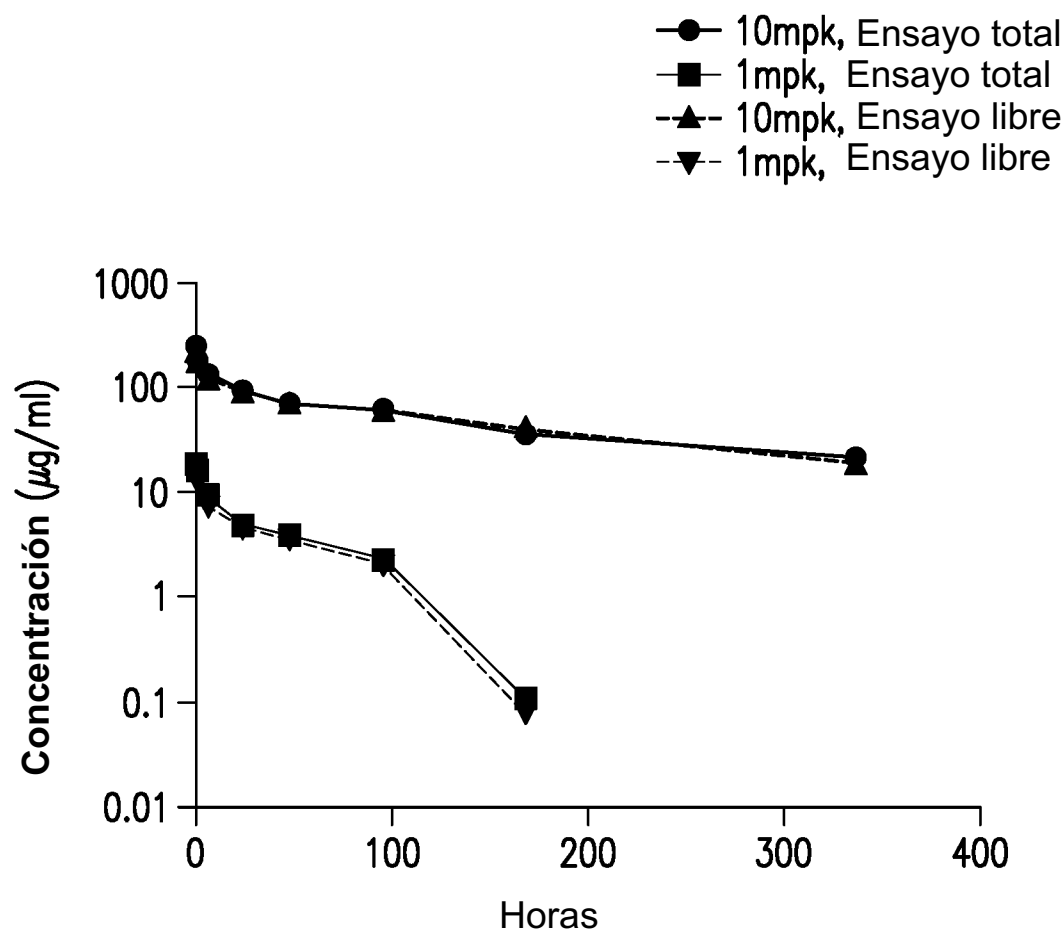


FIG.50C