CONJUGADOS DE ANTICUERPOS Y FÁRMACOS ANTI-FACTOR TISULAR Y MÉTODOS RELACIONADOS

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

[0001] Esta solicitud reivindica la prioridad sobre y el beneficio de la solicitud provisional de patente de los EE. UU. n.º 62/870,644, presentada el 3 de julio de 2019, cuyo contenido completo se incorpora como referencia en el presente documento.

ANTECEDENTES

[0002] La coagulación de la sangre implica un conjunto complejo de procesos, y el factor tisular (TF) cumple una función importante en estos procesos de coagulación. El TF es un receptor de la superficie celular del factor VIIa (FVIIa), una proteasa de serina. El complejo TF/FVIIa cataliza la conversión del factor X (FX) proteasa inactivo en el factor Xa (FXa) proteasa activo. El FXa y su cofactor FVa forman el complejo de protrombinasa, que produce trombina a partir de la protrombina. La trombina convierte el fibrinógeno soluble en hebras de fibrina insolubles y cataliza muchos otros procesos relacionados con la coagulación.

[0003] El TF se sobreexpresa en numerosos tipos de tumores sólidos. En el cáncer, la señalización del complejo TF/FVIIa puede respaldar la angiogénesis, la progresión tumoral y la metástasis.

SUMARIO

[0004] En el presente documento, se dan a conocer los conjugados anti-TF de anticuerpos y fármacos y los métodos relacionados.

[0005] Además, en el presente documento se da a conocer un conjugado de anticuerpos y fármacos que comprende lo siguiente:

a. una proteína de unión al antígeno (Ab) que se une al dominio extracelular del factor tisular (TF) humano (SEQ ID n.º 810), donde el Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2 y una VL-CDR3, donde

i. la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.º: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.º: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1 comprende

la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.º: 877,

ii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A3,

iii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A,

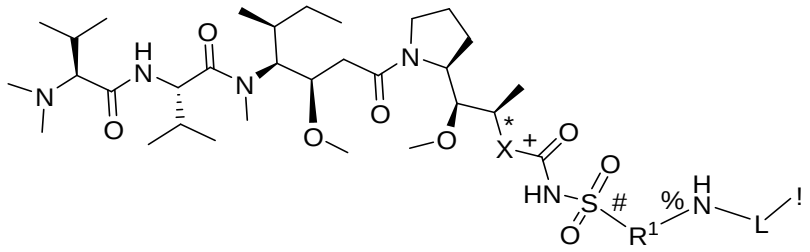
iv. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5,

v. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5-T o

vi. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25G1;

y

b. una o más fracciones de toxinas y conectores representados por la Fórmula IV:



Fórmula IV

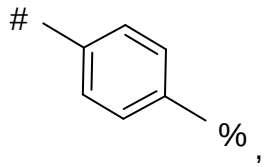
donde:

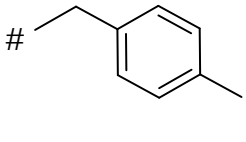
X es *-C(O)NHCH(CH_2(R^2))-$^{+}$, donde * y + representan los respectivos puntos de unión, como se indica en la Fórmula IV, o X está ausente;

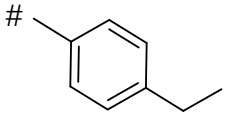
L es un conector;

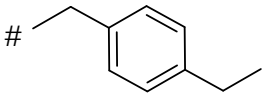
! representa el punto de unión de L con el Ab, donde L se une al Ab mediante un enlace covalente;

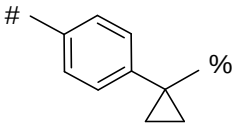
R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



,


,


,


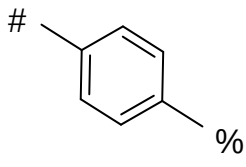
y


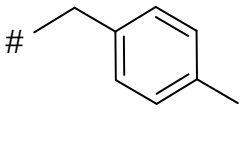
,

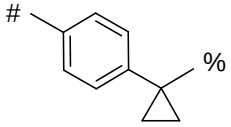
donde # y % representan los respectivos puntos de unión, como se indica en la Fórmula IV y

R^2 es fenilo.

[0006] En algunas realizaciones, R^1 se selecciona del grupo que consiste en lo siguiente:



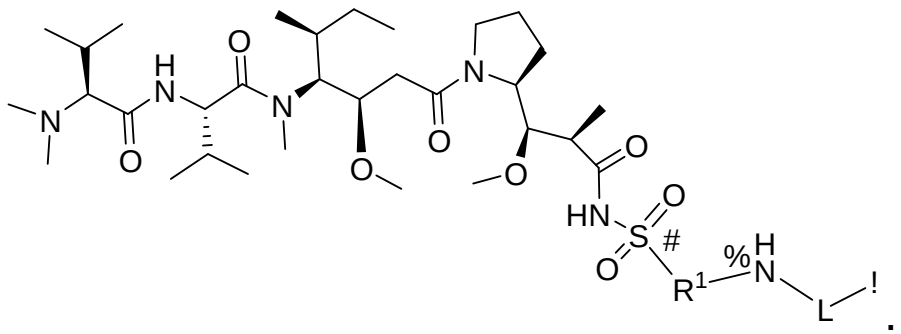
,


, y


.

[0007] En algunas realizaciones, X está ausente.

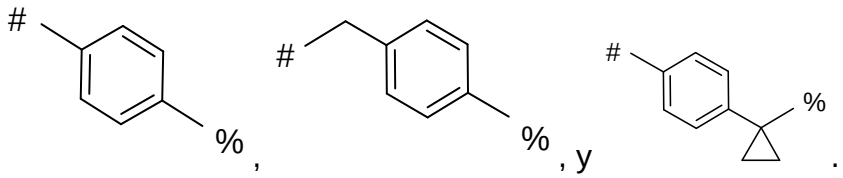
[0008] En algunas realizaciones, la fracción de toxinas y conectores de la Fórmula IV está representada por la Fórmula V:



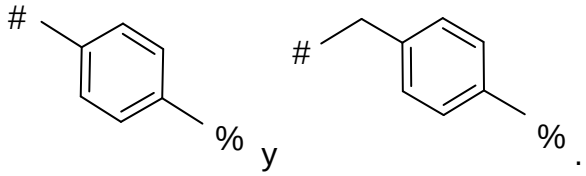
.

Fórmula V

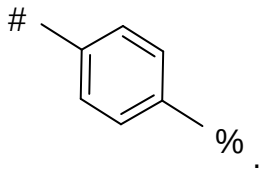
[0009] En algunas realizaciones, R^1 se selecciona del grupo que consiste en lo siguiente:



[0010] En algunas realizaciones, R^1 se selecciona del grupo que consiste en lo siguiente:



[0011] En algunas realizaciones, R^1 es:



[0012] En algunas realizaciones, L es un conector escindible.

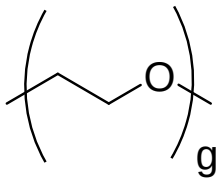
[0013] En algunas realizaciones, L es un conector que contiene péptidos.

[0014] En algunas realizaciones, L es un conector escindible por la proteasa.

[0015] En algunas realizaciones, L es un conector seleccionado de uno de los siguientes: éster de N-(β-maleimidopropiloxi)-N-hidroxisuccinimida (BMPS), éster de N-(ε-maleimidocaproiloxi)succinimida (EMCS), éster de N-[γ-maleimidobutiriloxi]succinimida (GMBS), 1,6-hexano-bis-vinilsulfona (HBVS), succinimidil-4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxi-(6-amidocaproato) (LC-SMCC), éster de m-maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimida (MBS), hidrazida de ácido 4-(4-N-maleimidofenil)butírico (MPBH), succinimidil-3-(bromoacetamido)propionato (SBAP), yodoacetato de succinimidilo (SIA), succinimidil-(4-yodoacetil)aminobenzoato (SIAB), N-succinimidil-3-(2-piridiltio)propionato (SPDP), N-succinimidil-4-(2-piridiltio)pentanoato (SPP), succinimidil-4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato (SMCC), succinimidil-4-(p-maleimidofenil)butirato (SMPB), succinimidil-6-[(β-maleimidopropionamido)hexanoato] (SMPH), iminotiolano (IT), sulfo-EMCS,

sulfo-GMBS, sulfo-KMUS, sulfo-MBS, sulfo-SIAB, sulfo-SMCC, sulfo-SMPB, y succinimidil-(4-vinilsulfona)benzoato (SVSB).

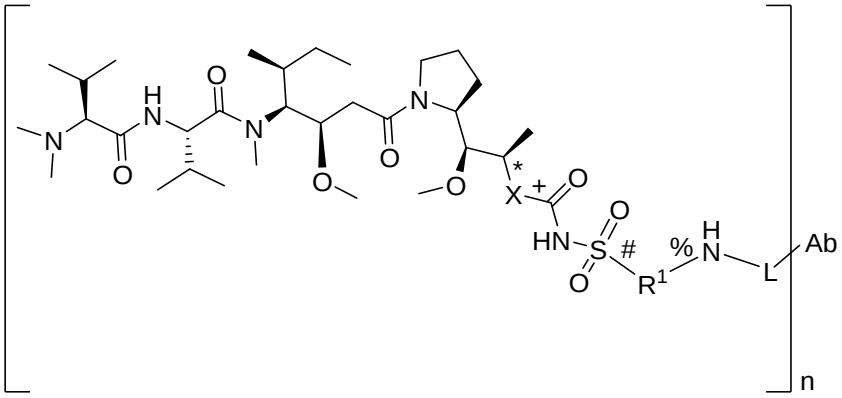
[0016] En algunas realizaciones, L comprende una cadena de poli(etilen)glicol de la fórmula:



donde g es un número entero del 1 al 20.

[0017] En algunas realizaciones, g es 3.

[0018] En el presente documento, se da a conocer un conjugado de anticuerpos y fármacos de la Fórmula VI:



Fórmula VI

donde:

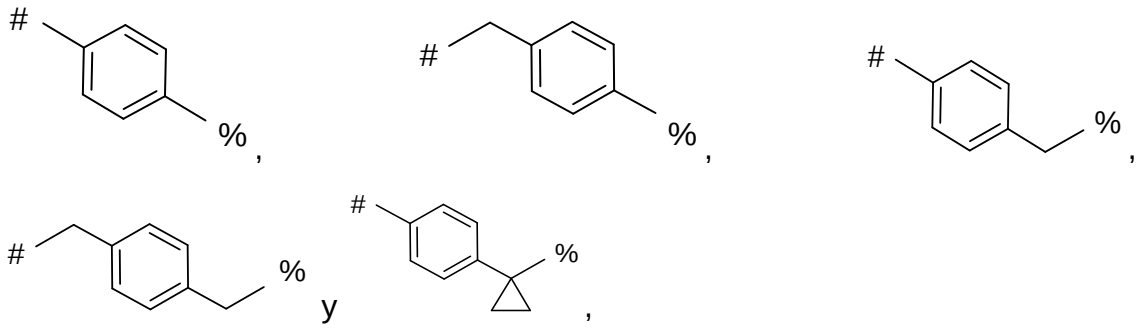
Ab representa un anticuerpo contra el factor tisular (TF);

n es un número entero mayor que o igual a 1;

X es *-C(O)NHCH(CH_2(R^2))-$^{+}$, donde * y + representan los puntos de unión respectivos conforme se indica en la Fórmula VI o X está ausente;

L es un conector;

R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



donde # y % representan los puntos de unión respectivos conforme se indica en la Fórmula VI y

R^2 es fenilo; y donde

Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2, y una VL-CDR3, donde

i. la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 877,

ii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A3,

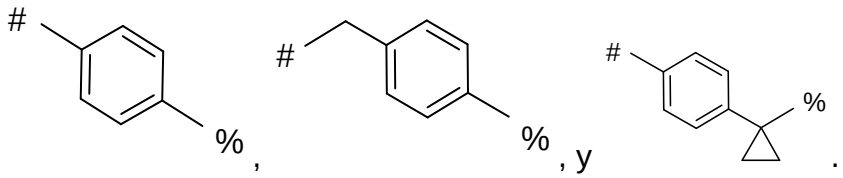
iii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A,

iv. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5,

v. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5-T o

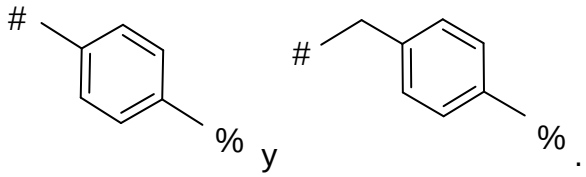
vi. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25G1.

[0019] En algunas realizaciones, R^1 se selecciona del grupo que consiste en lo siguiente:

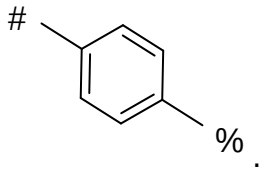


[0020] En algunas realizaciones, X está ausente.

[0021] En algunas realizaciones, R^1 se selecciona del grupo que consiste en lo siguiente:



[0022] En algunas realizaciones, R^1 es:



[0023] En algunas realizaciones, L es un conector escindible.

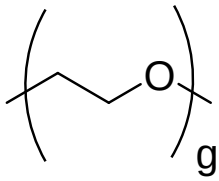
[0024] En algunas realizaciones, L es un conector que contiene péptidos.

[0025] En algunas realizaciones, L es un conector escindible por la proteasa.

[0026] En algunas realizaciones, L es un conector seleccionado de uno de los siguientes: éster de N-(β-maleimidopropiloxi)-N-hidroxisuccinimida (BMPS), éster de N-(ε-maleimidocaproiloxi)succinimida (EMCS), éster de N-[γ-maleimidobutiriloxi]succinimida (GMBS), 1,6-hexano-bis-vinilsulfona (HBVS), succinimidil-4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxi-(6-amidocaproato) (LC-SMCC), éster de m-maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimida (MBS), hidrazida de ácido 4-(4-N-maleimidofenil)butírico (MPBH), succinimidil-3-(bromoacetamido)propionato (SBAP), yodoacetato de succinimidilo (SIA), succinimidil-(4-yodoacetil)aminobenzoato (SIAB), N-succinimidil-3-(2-piridiltio)propionato (SPDP), N-succinimidil-4-(2-piridiltio)pentanoato (SPP), succinimidil-4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato (SMCC), succinimidil-4-(p-maleimidofenil)butirato (SMPB), succinimidil-6-[(β-

maleimidopropionamido)hexanoato] (SMPH), iminotiolano (IT), sulfo-EMCS, sulfo-GMBS, sulfo-KMUS, sulfo-MBS, sulfo-SIAB, sulfo-SMCC, sulfo-SMPB, y succinimidil-(4-vinilsulfona)benzoato (SVSB).

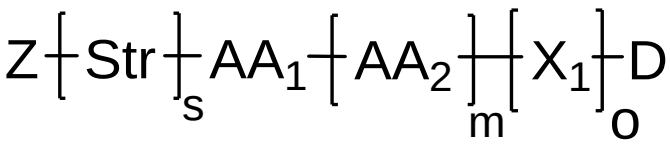
[0027] En algunas realizaciones, L comprende una cadena de poli(etilen)glicol de la fórmula:



donde g es un número entero del 1 al 20.

[0028] En algunas realizaciones, g es 3.

[0029] En algunas realizaciones, L está representado por la Fórmula VII:



Fórmula VII

donde:

Z representa un grupo funcional que se une a un grupo diana del anticuerpo TF;

D representa el punto de unión al grupo amino, como se indica en la Fórmula VI;

Str es un tensor;

AA_1 y AA_2 son cada uno, independientemente, un aminoácido, donde AA_1-$[AA_2]_m$ forma un lugar de escision de proteasa;

X_1 es un grupo autoinmolativo;

s es un número entero seleccionado de 0 y 1;

m es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3 y 4;

o es un número entero seleccionado de 0, 1 y 2.

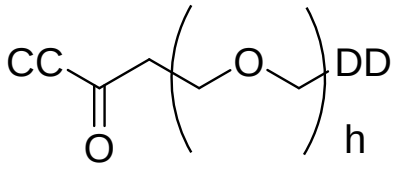
[0030] En algunas realizaciones, n es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4 y 5.

[0031] En algunas realizaciones, $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en alquileno, los tensores derivados de ácidos alifáticos, los tensores derivados de diácidos alifáticos, los tensores derivados de aminas alifáticas y los tensores derivados de diaminas alifáticas.

[0032] En algunas realizaciones, $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en tensores derivados de diglicolato, tensores derivados de malonato, tensores derivados de caproato y tensores derivados de caproamida.

[0033] En algunas realizaciones, $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en tensores derivados de glicina, tensores derivados de polietilenglicol y tensores derivados de monometoxi polietilenglicol.

[0034] En algunas realizaciones, $[Str]_s$ es:



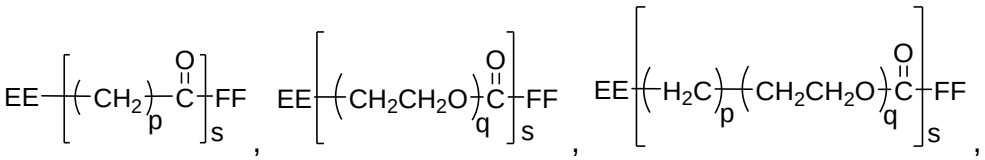
donde

h es un número entero del 1 al 20,

CC se refiere al punto de unión a AA_1 y

DD se refiere al punto de unión a Z.

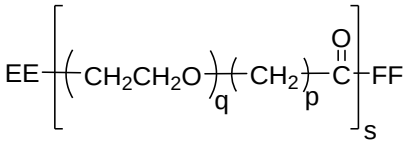
[0035] En algunas realizaciones, $[Str]_s$ se selecciona de lo siguiente:



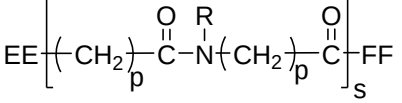
,

,

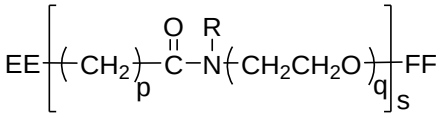
,



,



, y

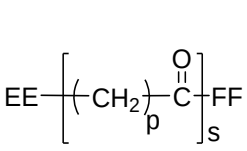


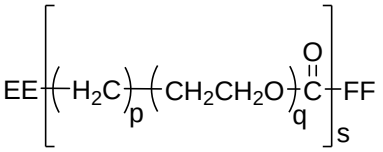
;

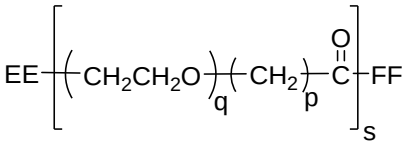
donde:

EE y FF representan los puntos de unión a Z y AA_1, respectivamente;
R se selecciona entre hidrógeno y alquilo C_1-C_6;
cada ocurrencia de p es independientemente un número entero del 2 al 10 y
cada ocurrencia de q es independientemente un número entero del 1 al 10.

[0036] En algunas realizaciones, $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en lo siguiente:



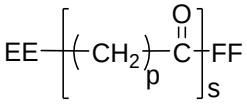
,


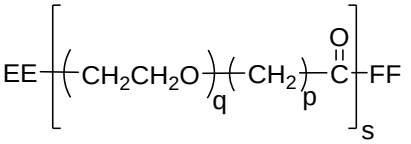
, y


,

donde:
EE y FF representan los puntos de unión a Z y AA_1, respectivamente;
cada ocurrencia de p es independientemente un número entero del 2 al 10 y
cada ocurrencia de q es independientemente un número entero del 1 al 10.

[0037] En algunas realizaciones, $[Str]_s$ se selecciona de lo siguiente:



y


,

donde:
EE y FF representan los puntos de unión a Z y AA_1, respectivamente;
cada ocurrencia de p es independientemente un número entero del 2 al 6 y
q es un número entero del 2 al 8.

[0038] En algunas realizaciones, AA_1-$[AA_2]_m$ se selecciona de Ala-Lys, Phe-Lys, Val-Cit, Phe-Cit, Leu-Cit, Ile-Cit, Trp-Cit, Phe-Arg, Ala-Phe, Val-Ala, Met-Lys, Asn-Lys, Ile-Pro, Ile-Val, Asp-Val, His-Val, Met-(D)Lys, Asn-(D)Lys, Val-(D)Asp, NorVal-(D)Asp, Ala-(D)Asp, Me_3Lys-Pro, PhenylGly-(D)Lys, Met-(D)Lys, Asn-(D)Lys, Pro-(D)Lys, Met-(D)Lys, Met-Cit-Val, Gly-Cit-Val, (D)Phe-Phe-Lys, (D)Ala-Phe-Lys, Gly-Phe-Leu-Gly y Ala-Leu-Ala-Leu.

[0039] En algunas realizaciones, m se selecciona entre 1, 2 y 3.

[0040] En algunas realizaciones, m es 1.

[0041] En algunas realizaciones, AA_1-$[AA_2]_m$ es un dipéptido seleccionado entre Val-Lys, Ala-Lys, Phe-Lys, Val-Cit, Phe-Cit, Leu-Cit, Ile-Cit y Trp-Cit.

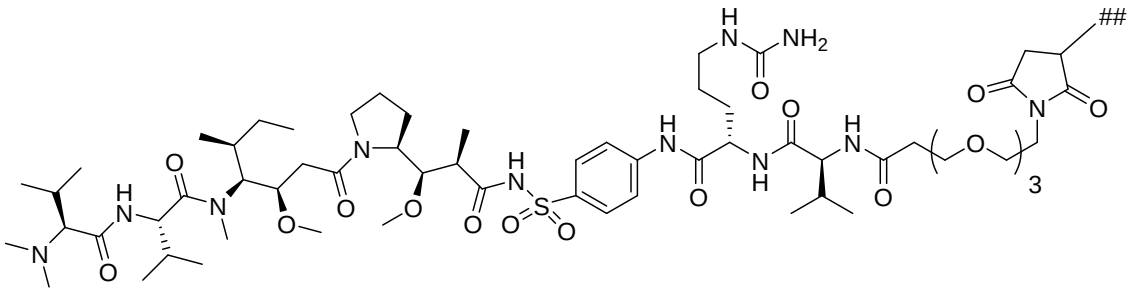
[0042] En algunas realizaciones, cada X_1 se selecciona independientemente entre p-aminobenziloxicarbonilo (PABC), el éter p-aminobenzilo (PABE) y la etilendiamina metilada (MED).

[0043] En algunas realizaciones, s es 1 y h es 3.

[0044] En algunas realizaciones, s es 1.

[0045] En algunas realizaciones, o es 0.

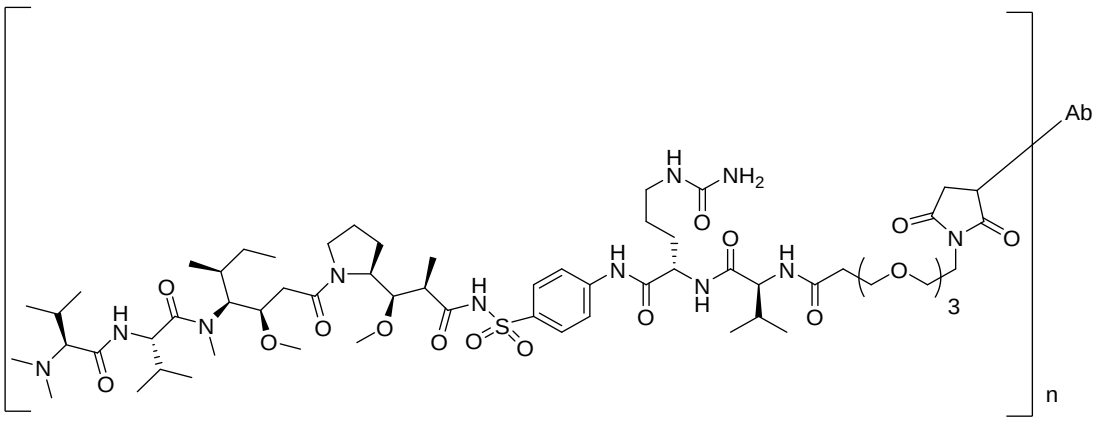
[0046] En el presente documento, se da a conocer un conjugado de anticuerpos y fármacos que comprende una fracción de toxinas y conectores de la Fórmula VIII:



Fórmula VIII

donde ## representa el punto de unión de la porción de enlace-toxina con el anticuerpo TF y la porción enlace-toxina está unida al anticuerpo a través de un enlace covalente

[0047] En el presente documento, se da a conocer un conjugado de anticuerpos y fármacos de la Fórmula **IX**:



Fórmula IX

donde:

el Ab es un anticuerpo del factor tisular (TF), donde el Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2 y una VL-CDR3, donde

i. la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 877,

ii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A3,

iii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A,

iv. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5,

v. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5-T o

vi. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25G1,

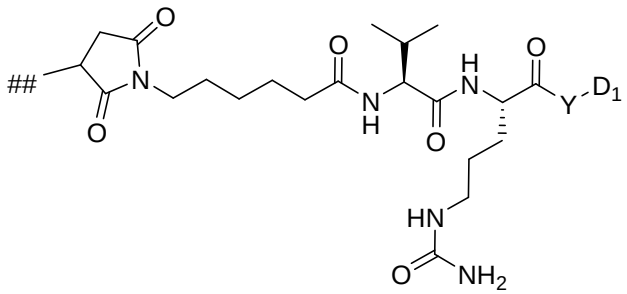
n es un número entero mayor que o igual a 1, y

el grupo succinimidilo está unido al Ab mediante un enlace covalente.

[0048] En algunas realizaciones, n se selecciona del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4 y 5.

[0049] En algunas realizaciones, n se selecciona del grupo que consiste en 2, 3 y 4.

[0050] En el presente documento, se da a conocer un conjugado de anticuerpos y fármacos que comprende un conector representado por la Fórmula X:



Fórmula X

donde:

es el punto de unión al anticuerpo, y el grupo succinimidilo se une al anticuerpo mediante un enlace covalente;

Y es uno o más componentes de enlace adicionales o está ausente y

D_1 es el punto de unión a un agente citotóxico y donde

Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2, y una VL-CDR3, donde

i. la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 877,

ii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A3,

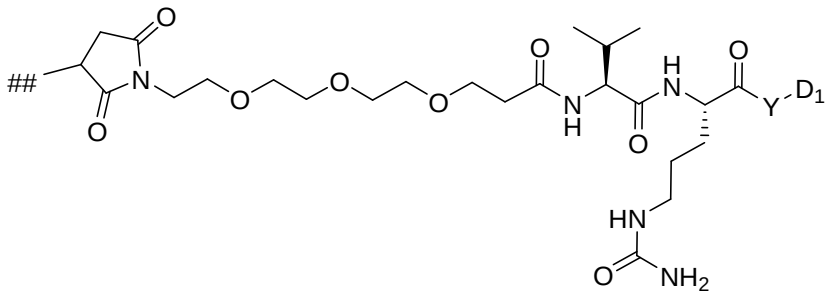
iii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A,

iv. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5,

v. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5-T o

vi. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25G1.

[0051] En el presente documento, se da a conocer un conjugado de anticuerpos y fármacos que comprende un conector representado por la Fórmula XI:



Fórmula XI

donde:

es el punto de unión al anticuerpo, y el grupo succinimidilo se une al anticuerpo mediante un enlace covalente;

Y es uno o más componentes de enlace adicionales o está ausente y

D_1 es el punto de unión a un agente citotóxico y donde

Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2, y una VL-CDR3, donde

i. la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 877,

ii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A3,

iii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A,

iv. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5,

v. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5-T o

vi. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25G1.

[0052] En algunas realizaciones, el agente citotóxico se selecciona del grupo que consiste en un agente de diagnóstico, un quelante de metales, una enzima, un compuesto fluorescente, un compuesto bioluminiscente o un compuesto quimioluminiscente.

[0053] En algunas realizaciones, el agente citotóxico es una carga útil citotóxica con un perfil de seguridad mejorado.

[0054] En algunas realizaciones, Ab comprende lo siguiente:

a. una secuencia de VH que es la SEQ ID n.º 868 y una secuencia VL que es la SEQ ID n.º 869,

b. una VH que es la SEQ ID n.º 151 y una secuencia VL que es la SEQ ID n.°: 152,

c. una secuencia de VH que es la SEQ ID n.º 113 y una secuencia VL que es la SEQ ID n.°: 114,

d. una secuencia de VH que es la SEQ ID n.º 189 y una secuencia VL que es la SEQ ID n.°: 190,

e. una secuencia de VH que es la SEQ ID n.º 836 y una secuencia VL que es la SEQ ID n.°: 837 o

f. una secuencia de VH que es la SEQ ID n.º 265 y una secuencia VL que es la SEQ ID n.°: 266.

[0055] En algunas realizaciones, Ab comprende lo siguiente:

a. una secuencia de cadena pesada que es QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDx[V/A]YGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPYx[N/S]GNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP

KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP
PSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una
secuencia de cadena ligera que es
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCx[R/Q]ASx[Q/E]SIx[S/N]x[S/N]WLAWYQQKP
GKAPKLLIYKAx[S/Y]x[S/N]LEx[S/Y]GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFAT
YYCQx[Q/L]FQx[S/K]LPPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS
VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK
ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC,

b. una secuencia de cadena pesada que es
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWI
APYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTY
SPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de
cadena ligera que es
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSINNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYN
LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC,

c. una secuencia de cadena pesada que es
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWI
APYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTY
SPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD

YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de cadena ligera que es
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASS
LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQFQSLPPFTFGGGTKVE
IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC,

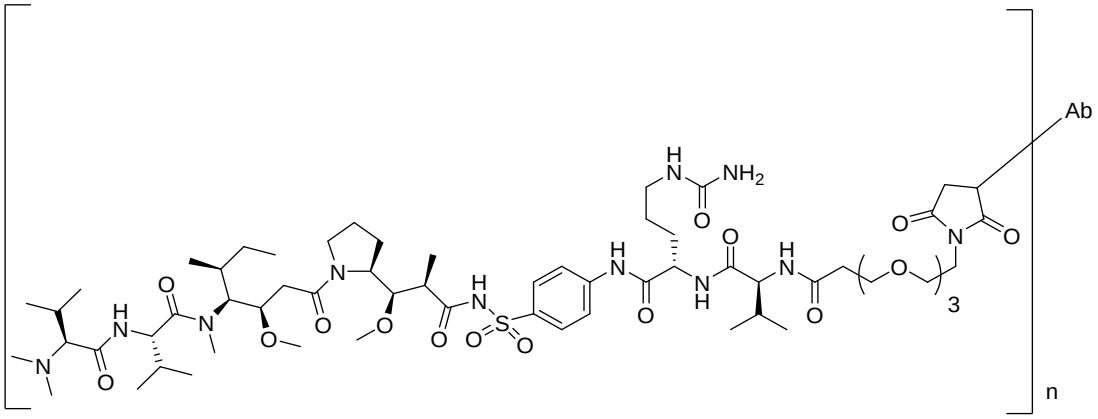
d. una secuencia de cadena pesada que es
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDAYGISWVRQAPGQGLEWMGWI
APYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTY
SPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de cadena ligera que es
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYSL
EYGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQFQKLPPFTFGGGTKVEI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC,

e. una secuencia de cadena pesada que es
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRSYGISWVRQAPGQGLEWMGW

VAPYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGT
YSPYGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de cadena ligera que es
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASHSIDSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASY
LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC o

f. una secuencia de cadena pesada que es
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWI
APYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTY
SPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de cadena ligera que es
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYSL
EYGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQFQKLPPFTFGGGTKVEI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC.

[0056] En el presente documento, se da a conocer un conjugado de anticuerpos y fármacos de la Fórmula IX:



Fórmula IX

donde:

Ab es un anticuerpo contra el factor tisular (TF), donde Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2 y una VL-CDR3 del anticuerpo designado 25A3 y

n es un número entero mayor que o igual a 1.

[0057] En algunas realizaciones, n se selecciona del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4 y 5.

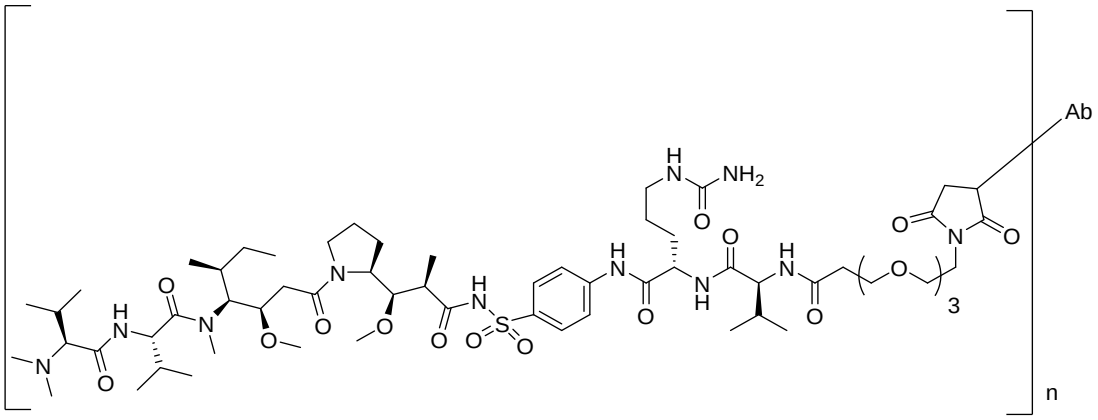
[0058] En algunas realizaciones, n se selecciona del grupo que consiste en 2, 3 y 4.

[0059] En algunas realizaciones, el Ab comprende una secuencia de VH que es la SEQ ID n.º 151 y una secuencia VL que es la SEQ ID n.°: 152.

[0060] En algunas realizaciones, el Ab comprende una secuencia completa de cadena pesada que es QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWI APYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTY SPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV

LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de cadena ligera que es
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSINNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYN
LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC.

[0061] En el presente documento, se da a conocer un conjugado de anticuerpos y fármacos de la Fórmula **IX**:



Fórmula IX

donde:

Ab es un anticuerpo contra el factor tisular (TF), donde Ab comprende una secuencia de cadena pesada que es
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWI
APYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTY
SPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM

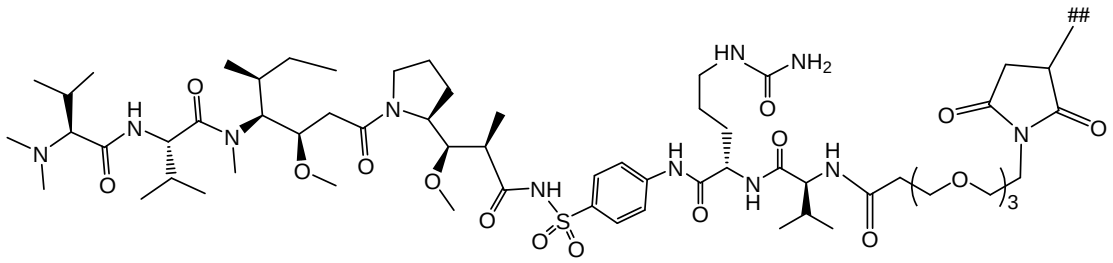
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de cadena ligera que es DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSINNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYN LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC y

n es un número entero mayor que o igual a 1.

[0062] En algunas realizaciones, n se selecciona del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4 y 5.

[0063] En algunas realizaciones, n se selecciona del grupo que consiste en 2, 3 y 4.

[0064] En el presente documento, se da a conocer un conjugado de anticuerpos y fármacos que comprende un anticuerpo (Ab) y una o más toxinas y conectores de la siguiente estructura:



;

donde:

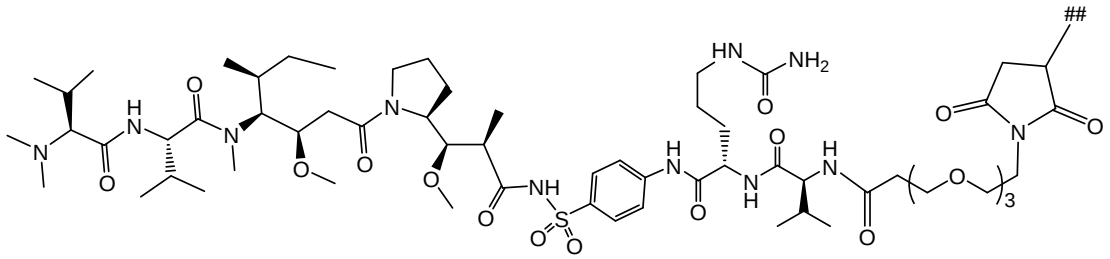
Ab es un anticuerpo contra el factor tisular (TF), donde Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2 y una VL-CDR3 del anticuerpo designado 25A3;

los uno o más enlaces-toxinas están unidos al Ab mediante un enlace covalente y

representa un punto de unión de las toxinas y conectores con el Ab.

[0065] En el presente documento, se da a conocer una composición del conjugado de anticuerpos y fármacos que comprende el conjugado de anticuerpos y fármacos que se divulga en el presente documento, donde la composición comprende una multiplicidad de especies de la relación anticuerpo y fármaco (DAR), donde el promedio DAR de la composición es de 2-4.

[0066] En el presente documento, se da a conocer un conjugado de anticuerpos y fármacos que comprende un anticuerpo (Ab) y una o más toxinas y conectores de la siguiente estructura:



;

donde:

Ab es un anticuerpo contra el factor tisular (TF), donde Ab comprende una secuencia de cadena pesada que es QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWI APYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTY SPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de cadena ligera que es DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSINNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYN LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN

SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC y

los uno o más enlaces-toxinas están unidos al Ab mediante un enlace covalente y

representa un punto de unión de las toxinas y conectores con el Ab.

[0067] En el presente documento, se da a conocer una composición del conjugado de anticuerpos y fármacos que comprende el conjugado de anticuerpos y fármacos que se divulga en el presente documento, donde la composición comprende una multiplicidad de especies de la relación anticuerpo y fármaco (DAR), donde el promedio DAR de la composición es de 2-4.

[0068] En algunas realizaciones, el Ab es multiespecífico.

[0069] En algunas realizaciones, el Ab es Fab, Fab', F(ab')2, Fv, scFv, (scFv)2, una molécula de anticuerpo de cadena única, un anticuerpo de dominio variable doble, un anticuerpo de dominio variable único, un anticuerpo lineal o un anticuerpo de dominio V.

[0070] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende un andamiaje, donde, opcionalmente, el andamiaje es Fc, opcionalmente Fc humano.

[0071] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región constante de cadena pesada de una clase seleccionada de IgG, IgA, IgD, IgE e IgM.

[0072] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región constante de cadena pesada de la clase IgG, donde la región constante de cadena pesada es de una subclase seleccionada de IgG1, IgG2, IgG3, e IgG4.

[0073] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región constante de cadena pesada de IgG1.

[0074] En algunas realizaciones, el Fc comprende una o más modificaciones, en las que una o más modificaciones dan como resultado un aumento de la semivida, un aumento de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), un aumento de la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP), un aumento de la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) o

una disminución de la función efectora, en comparación con el Fc sin una o más modificaciones.

[0075] En el presente documento, se da a conocer una composición farmacéutica que comprende el conjugado de anticuerpos y fármacos, tal como se divulga en el presente documento, y un portador farmacéuticamente aceptable.

[0076] En el presente documento, se da a conocer un método para tratar o prevenir una enfermedad o afección en un sujeto que lo necesite, que comprende la administración al sujeto de una cantidad eficaz del conjugado de anticuerpos y fármacos que se divulga en el presente documento o la composición farmacéutica que se divulga en el presente documento.

[0077] En algunas realizaciones, la enfermedad o afección es un cáncer.

[0078] En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de cabeza y cuello, cáncer de ovario, cáncer gástrico, cáncer de esófago, cáncer de cuello uterino, cáncer de próstata, cáncer de páncreas, cáncer de mama sin receptores de estrógeno (ER–), cáncer de mama sin receptores de progesterona (PR–), cáncer de mama sin HER2 (HER2–) triple negativo, glioblastoma, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, melanoma y cáncer de riñón.

[0079] En algunas realizaciones, la enfermedad o afección involucra la neovascularización.

[0080] En algunas realizaciones, la enfermedad o afección que involucra la neovascularización es el cáncer.

[0081] En algunas realizaciones, la enfermedad o afección involucra la inflamación vascular.

[0082] En algunas realizaciones, el método comprende, además, la administración de uno o más agentes terapéuticos al sujeto.

[0083] En algunas realizaciones, la composición comprende, además, uno o más agentes terapéuticos.

[0084] En algunas realizaciones, el otro agente terapéutico se formula en una composición farmacéutica diferente.

[0085] En algunas realizaciones, el otro agente terapéutico se administra antes de la administración de la composición.

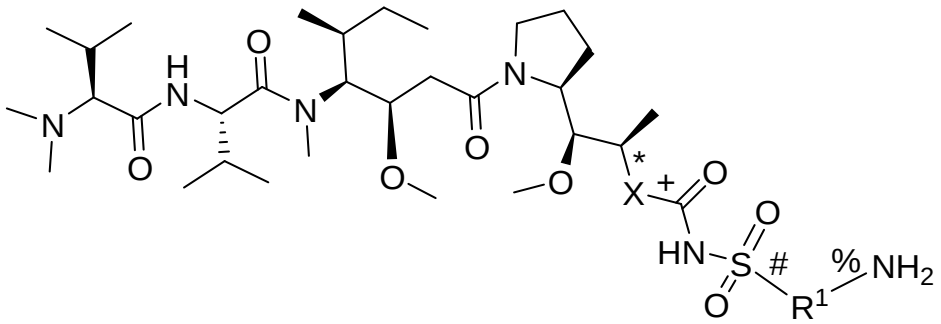
[0086] En algunas realizaciones, el otro agente terapéutico se administra después de administrar la composición.

[0087] En algunas realizaciones, el otro agente terapéutico se administra al mismo tiempo que se administra la composición.

[0088] En algunas realizaciones, el sujeto es un sujeto humano.

[0089] En el presente documento, se da a conocer un proceso para preparar un conjugado de anticuerpos y fármacos; el proceso comprende lo siguiente:

(A) hacer reaccionar un grupo nucleófilo o electrófilo sobre una proteína de unión al antígeno (Ab) que se une al dominio extracelular del factor tisular (TF) humano (SEQ ID n.º 810) con un conector bifuncional para formar un producto intermedio del conector y el Ab, y hacer reaccionar el producto intermedio del conector y el Ab con el grupo -NH_2 de la Fórmula **I** general

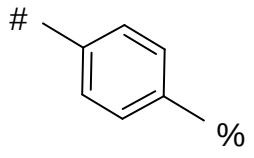


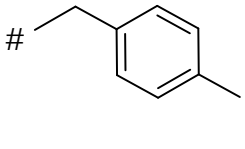
Fórmula I

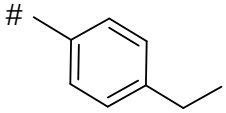
donde:

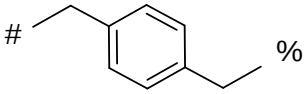
X es *-C(O)NHCH(CH_2(R^2))-$^{+}$, donde * y + representan los respectivos puntos de unión, como se indica en la Fórmula **I**, o X está ausente;

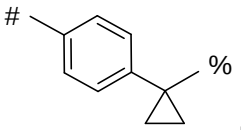
R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



,


,


,


, y


,

donde # y % representan los respectivos puntos de unión, como se indica en la Fórmula **I** y R^2 es el fenilo,

Para producir el conjugado de anticuerpos y fármacos o

B) hacer reaccionar el grupo -NH_2 sobre el derivado de la auristatina de la Fórmula **I** general con un conector bifuncional para formar un producto intermedio de toxinas y conectores, y hacer reaccionar el producto intermedio de toxinas y conectores con un grupo nucleófilo o electrófilo sobre una proteína de unión al antígeno (Ab) que se une al dominio extracelular del factor tisular (TF) humano (SEQ ID n.º 810) para producir el conjugado de anticuerpos y fármacos, donde, en A) o B),

a) el Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2, y una VL-CDR3, donde

i. la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 877,

ii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A3,

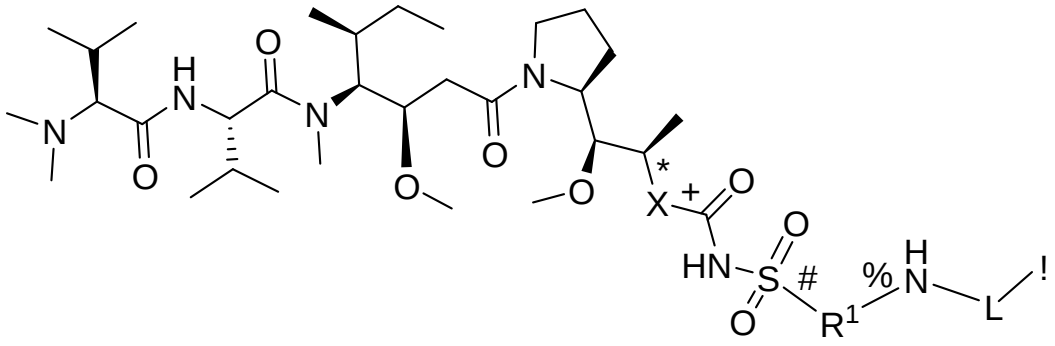
iii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A,

iv. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5,

v. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5-T o

vi. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25G1 y

b) el conjugado de anticuerpos y fármacos comprende una o más fracciones representadas por la Fórmula IV:



Fórmula IV

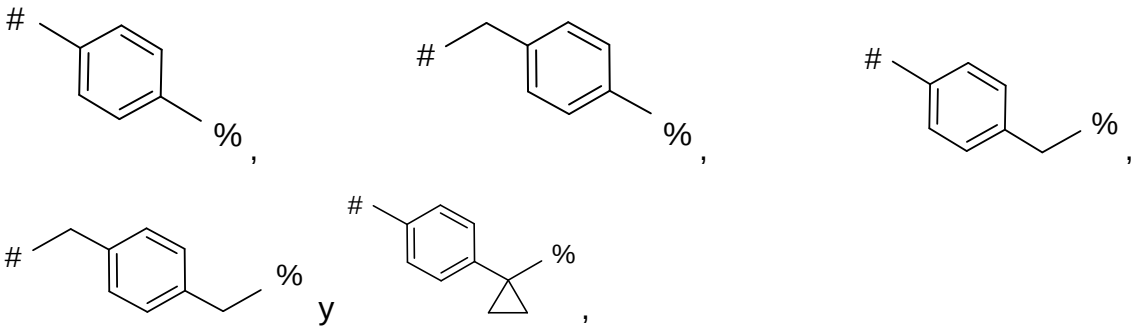
donde:

X es *-C(O)NHCH(CH_2(R^2))-$^{+}$, donde * y + representan los respectivos puntos de unión, como se indica en la Fórmula IV, o X está ausente;

L es un conector;

! representa el punto de unión de L con el Ab, donde L se une al Ab mediante un enlace covalente;

R^1 se selecciona del grupo que consiste en:

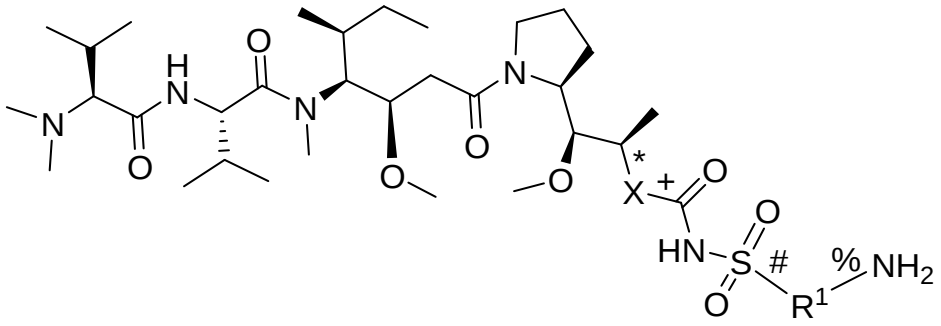


donde # y % representan los puntos de unión respectivos conforme se indica en la Fórmula VI y

R^2 es fenilo.

[0090] En el presente documento, se da a conocer un proceso para preparar un conjugado de anticuerpos y fármacos; el proceso comprende lo siguiente:

A) hacer reaccionar un grupo nucleófilo o electrófilo sobre una proteína de unión al antígeno (Ab) que se une al dominio extracelular del factor tisular (TF) humano (SEQ ID n.º810) con un primer componente de conector de un conector bifuncional que comprende dos o más componentes de conector, seguido de la adición secuencial de los componentes restantes del conector para formar un producto intermedio del conector y el Ab, y hacer reaccionar el producto intermedio del conector y el Ab con el grupo $-NH_2$ o un compuesto de la Fórmula **I** general:

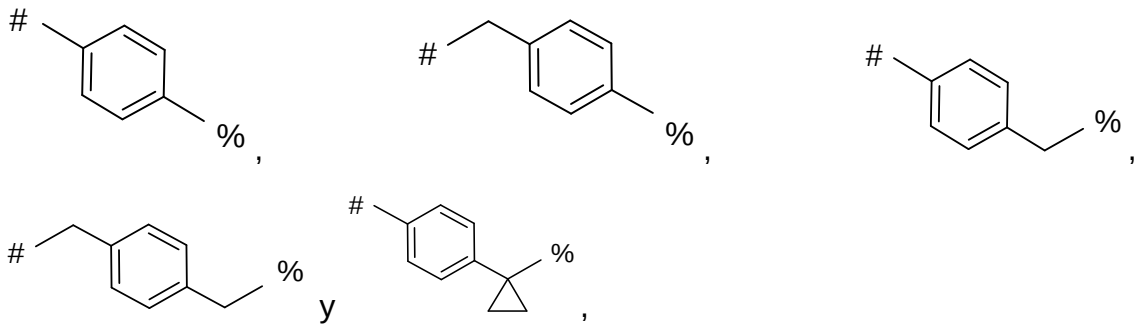


Fórmula I

donde:

X es *-C(O)NHCH(CH_2(R^2))-$^{+}$, donde * y + representan los respectivos puntos de unión, como se indica en la Fórmula **I**, o X está ausente;

R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



donde # y % representan los respectivos puntos de unión, como se indica en la Fórmula **I** y R^2 es el fenilo,

Para producir el conjugado de anticuerpos y fármacos o

B) hacer reaccionar el grupo -NH_2 sobre el compuesto de la Fórmula **I** general con un primer componente de conector de un conector bifuncional que comprende dos o más componentes de conector, seguido de la adición secuencial de los componentes restantes del conector para formar un producto intermedio de toxinas y conectores, y hacer reaccionar el producto intermedio de toxinas y conectores con un grupo nucleófilo o electrófilo sobre una proteína de unión al antígeno (Ab) que se une al dominio extracelular del factor tisular (TF) humano (SEQ ID n.º 810) para producir el conjugado de anticuerpos y fármacos, donde, en A) o B),

a) el Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2, y una VL-CDR3, donde

i. la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 877,

ii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A3,

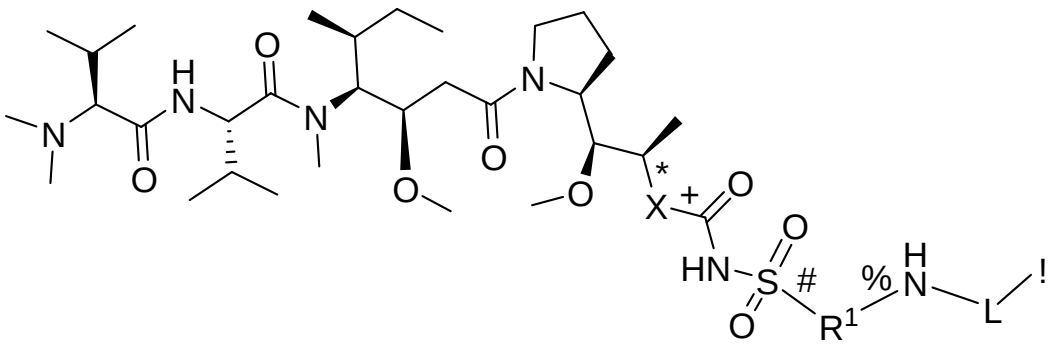
iii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A,

iv. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5,

v. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5-T o

vi. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25G1 y

b) el conjugado de anticuerpos y fármacos comprende una o más fracciones representadas por la Fórmula IV:



Fórmula IV

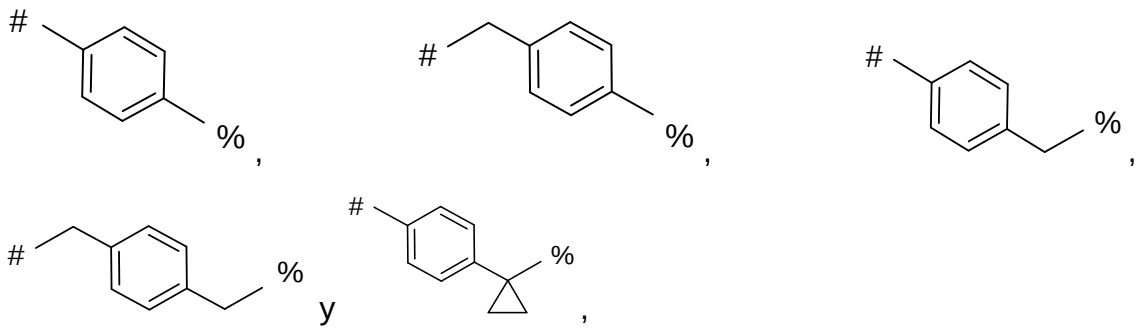
donde:

X es *-C(O)NHCH(CH_2(R^2))-$^{+}$, donde * y + representan los respectivos puntos de unión, como se indica en la Fórmula IV, o X está ausente;

L es un conector;

! representa el punto de unión de L con el Ab, donde L se une al Ab mediante un enlace covalente;

R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



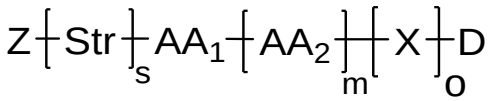
donde # y % representan los puntos de unión respectivos conforme se indica en la Fórmula VI y

R^2 es fenilo.

[0091] En algunas realizaciones, el grupo nucleófilo o electrófilo en el Ab es un tiol o una amina.

[0092] En algunas realizaciones, el proceso comprende, además, el tratamiento del Ab con un reductor para reducir uno o más enlaces de disulfuro en el Ab para producir el grupo tiol nucleófilo.

[0093] En algunas realizaciones, L está representado por lo siguiente:



Fórmula VII

donde:

Z representa un grupo funcional que se une a un grupo diana del Ab;

D representa el punto de unión al grupo amino, como se indica en la Fórmula X;

Str es un tensor;

AA_1 y AA_2 son cada uno, independientemente, un aminoácido, donde AA_1-$[AA_2]_m$ forma un lugar de escision de proteasa;

X es un grupo autoinmolativo;

s es un número entero seleccionado de 0 y 1;

m es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3 y 4; y

o es un número entero seleccionado de 0, 1 y 2.

[0094] En el presente documento, se da a conocer un equipo que comprende el conjugado de anticuerpos y fármacos, tal como se divulga en el presente documento, o la composición farmacéutica, tal como se divulga en el presente documento, y las instrucciones de uso.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0095] Estas y otras características, aspectos y ventajas de la presente invención se entenderán mejor con respecto a la siguiente descripción, y los dibujos que la acompañan, donde:

[0096] La Figura 1 muestra la estructura de toxinas y conectores denominada toxina-conector A (también denominada LT-A en el presente documento).

[0097] La Figura 2A muestra la estructura de una fracción de toxinas y conectores de la toxina-conector A (LT-A) unida a un anticuerpo, donde ## representa un punto de unión a un anticuerpo contra el factor tisular (TF). **La Figura 2B** muestra una representación de un conjugado de anticuerpos y fármacos que comprende una fracción de toxinas y conectores de la toxina-conector A (LT-A) y un anticuerpo anti-TF.

[0098] La Figura 3A muestra la viabilidad celular indicada por la luminiscencia CTG y la IC_{50} calculada en células A431 con TF tras una incubación durante 4 h con control isotípico o 25A3-LT-A, seguida de un período de reposo farmacológico y 68 h de cultivo. **La Figura 3B** muestra la viabilidad celular indicada por la luminiscencia CTG y la IC_{50} calculada en células A431 con TF tras una incubación durante 3 días con control isotípico o 25A3-LT-A.

[0099] La Figura 4A muestra los resultados de un estudio de un xenoinjerto de una estirpe celular de un carcinoma de mama triple negativo MDA-MB231 en ratones inmunodeprimidos. Los animales recibieron un tratamiento con el conjugado de anticuerpos y fármacos anti-TF 25A3-LT-A, el control isotípico LT-A o el control vehicular intraperitoneal (i. p.) una vez por semana durante 2 semanas, y el peso corporal y el tamaño del tumor se evaluaron cada dos semanas. **La Figura 4B** muestra los resultados de un estudio de un xenoinjerto de una estirpe celular de un carcinoma pancreático HPAF-II en ratones inmunodeprimidos. Los animales recibieron un tratamiento con el conjugado de anticuerpos y fármacos anti-TF 25A3-LT-A, el control isotípico LT-A o el control vehicular intraperitoneal (i. p.) una vez por semana durante 2 semanas, y el peso corporal y el tamaño del tumor se evaluaron cada dos semanas.

[00100] Las Figuras 5A-5D muestra los resultados de un estudio con una sola administración y de búsqueda de dosis. Los ratones inmunodeprimidos con xenoinjertos de células de carcinoma pancreático HPAF-II con TF recibieron un tratamiento i. p. cuando el tamaño promedio del tumor era de 200 mm^3 (flecha) con las dosis indicadas de conjugado de anticuerpos y fármacos anti-TF 25A3-LT-A o un control de vehículo. **La Figura 5A** muestra las mediciones del volumen medio del tumor ± el error estándar de la media (SEM) de cada uno de los grupos experimentales. **La Figura 5B** muestra las mediciones del volumen del tumor de los ratones individuales tratados con 5 mg/kg de 25A3-LT-A. La **Figura 5C** muestra las mediciones del volumen del tumor de los ratones individuales tratados con 7,5 mg/kg de 25A3-LT-A. La **Figura 5D** muestra las mediciones del

volumen del tumor de los ratones individuales tratados con 10 mg/kg de 25A3-LT-A.

[00101] La Figura 6 muestra la media de los perfiles de concentración-tiempo de un estudio de un xenoinjerto de una estirpe celular de un carcinoma pancreático HPAF-II en ratones inmunodeprimidos. Los animales recibieron un tratamiento i. p. con 2,5 mg/kg o 10 mg/kg del conjugado de anticuerpos y fármacos anti-TF 25A3-LT-A, y la concentración de 25A3-LT-A se midió con un ensayo PK que detecta la molécula intacta.

[00102] Las Figuras 7A-7D muestran los resultados de un estudio de intervención tardía donde los xenoinjertos de células de carcinoma pancreático HPAF-II con TF recibieron un tratamiento i. p. cuando el tamaño medio del tumor era de 500 mm^3 con 7,5 mg/kg o 10 mg/kg del conjugado de anticuerpos y fármacos anti-TF 25A3-LT-A o un control de vehículo (PBS). **La Figura 7A** muestra las mediciones del volumen medio del tumor ± el SEM de cada uno de los grupos experimentales. **La Figura 7B** muestra las mediciones del volumen del tumor de los ratones individuales tratados con el control del vehículo (PBS). **La Figura 7C** muestra las mediciones del volumen del tumor de los ratones individuales tratados con 7,5 mg/kg de 25A3-LT-A. La **Figura 7D** muestra las mediciones del volumen del tumor de los ratones individuales tratados con 10 mg/kg de 25A3-LT-A.

[00103] Las Figuras 8A-8E muestra los resultados de los ratones inmunodeprimidos con xenoinjertos derivados de pacientes, que recibieron un tratamiento i. p. con 10 mg/kg de 25A3-LT-A o el control del vehículo (PBS) cuando el tamaño medio del tumor era de 200 mm^3. Las evaluaciones del tamaño del tumor se realizaron dos veces por semana. Los gráficos muestran el volumen medio del tumor ± el SEM. **La Figura 8A** muestra las mediciones del volumen del tumor en los ratones CTG-0353. Antes del tratamiento, a estos ratones se les había implantado fragmentos de tumores gástricos. **La Figura 8B** muestra las mediciones del volumen del tumor en los ratones CTG-0707. Antes del tratamiento, a estos ratones se les había implantado fragmentos de tumores

gástricos. **La Figura 8C** muestra las mediciones del volumen del tumor en los ratones CTG-0786. Antes del tratamiento, a estos ratones se les había implantado fragmentos de tumores de cáncer de cabeza y cuello. **La Figura 8D** muestra las mediciones del volumen del tumor en los ratones CTG-1076. Antes del tratamiento, a estos ratones se les había implantado fragmentos de tumores de vejiga. **La Figura 8E** muestra las mediciones del volumen del tumor en los ratones CTG-1130. Antes del tratamiento, a estos ratones se les había implantado fragmentos de tumores de cáncer de cabeza y cuello.

[00104] Las Figuras 9A-9E muestra las inmunotinciones de las muestras tumorales de xenoinjerto derivadas de pacientes, obtenidas de ratones inmunodeprimidos. Los especímenes de la biopsia se seccionaron y tiñeron para detectar la expresión del TF. **La Figura 9A** muestra una inmunotinción representativa de los ratones CTG-0353 a los que se les había implantado fragmentos de tumores gástricos. **La Figura 9B** muestra una inmunotinción representativa de los ratones CTG-0707 a los que se les había implantado fragmentos de tumores gástricos. **La Figura 9C** muestra una inmunotinción representativa de los ratones CTG-0786 a los que se les había implantado fragmentos de tumores de cáncer de cabeza y cuello. **La Figura 9D** muestra una inmunotinción representativa de los ratones CTG-1076 a los que se les había implantado fragmentos de tumores de vejiga. **La Figura 9E** muestra una inmunotinción representativa de los ratones CTG-1130 a los que se les había implantado fragmentos de tumores de cáncer de cabeza y cuello.

[00105] Las Figuras 10A-10E muestra los resultados de las muestras tumorales de xenoinjerto derivadas de pacientes, obtenidas de ratones inmunodeprimidos. Los gráficos muestran el volumen medio del tumor ± el SEM. **La Figura 10A** muestra las mediciones del volumen del tumor en los ratones HN2574. Antes del tratamiento, a estos ratones se les había implantado fragmentos de tumores de cáncer de cabeza y cuello. **La Figura 10B** muestra las mediciones del volumen del tumor en los ratones ES0147. Antes del tratamiento, a estos ratones se les había implantado fragmentos de tumores esofágicos. **La Figura 10C** muestra las

mediciones del volumen del tumor en los ratones ES0214. Antes del tratamiento, a estos ratones se les había implantado fragmentos de tumores esofágicos. **La Figura 10D** muestra las mediciones del volumen del tumor en los ratones PA1332. Antes del tratamiento, a estos ratones se les había implantado fragmentos de tumores pancreáticos. **La Figura 10E** muestra las mediciones del volumen del tumor en los ratones PA6262. Antes del tratamiento, a estos ratones se les había implantado fragmentos de tumores pancreáticos.

[00106] Las Figuras 11A-11E muestra las inmunotinciones de las muestras tumorales de xenoinjerto derivadas de pacientes, obtenidas de ratones inmunodeprimidos. Los especímenes de la biopsia se seccionaron y tiñeron para detectar la expresión del TF. **La Figura 11A** muestra una inmunotinción representativa de los ratones HN2574 a los que se les había implantado fragmentos de tumores de cáncer de cabeza y cuello. **La Figura 11B** muestra una inmunotinción representativa de los ratones ES0147 a los que se les había implantado fragmentos de tumores esofágicos. **La Figura 11C** muestra una inmunotinción representativa de los ratones ES0214 a los que se les había implantado fragmentos de tumores esofágicos. **La Figura 11D** muestra una inmunotinción representativa de los ratones PA1332 a los que se les había implantado fragmentos de tumores pancreáticos. **La Figura 11E** muestra una inmunotinción representativa de los ratones PA6262 a los que se les había implantado fragmentos de tumores pancreáticos.

[00107] La Figura 12 muestra inmunotinciones de TF y puntajes H de tres xenoinjertos derivados de pacientes con cáncer de ovario o de cuello uterino, como se indica.

[00108] La Figura 13A muestra los resultados de un estudio de un xenoinjerto con TF derivado de un paciente con cáncer gástrico en ratones inmunodeprimidos. Los animales recibieron un tratamiento con 25A3-LT-A o un control isotípico-LT-A i. p., y el peso corporal y el tamaño del tumor se evaluaron cada dos semanas. **La Figura 13B** muestra los resultados de un estudio de un xenoinjerto con TF derivado de un paciente con cáncer pulmonar en ratones

inmunodeprimidos. Los animales recibieron un tratamiento con 25A3-LT-A o un control isotípico-LT-A i. p., y el peso corporal y el tamaño del tumor se evaluaron cada dos semanas.

[00109] **La Figura 14A** muestra los niveles medios de aspartato aminotransferasa (AST) en macacos cangrejeros ("macacos") que recibieron las dosis indicadas de 25A3-LT-A o 25A3-MMAE en los días 1, 22 y 36 del estudio. **La Figura 14B** muestra los niveles medios de alanina aminotransferasa (ALT) en macacos que recibieron las dosis indicadas de 25A3-LT-A o 25A3-MMAE en los días 1, 22 y 36 del estudio.

[00110] **La Figura 15A** muestra la media de los recuentos de neutrófilos en macacos que recibieron las dosis indicadas de 25A3-MMAE en los días 1, 22 y 36 del estudio. **La Figura 15B** muestra la media de los recuentos de neutrófilos en macacos que recibieron las dosis indicadas de 25A3-LT-A en los días 1, 22 y 36 del estudio. El promedio histórico proviene de valores de referencia recogidos de las colonias de monos en el río Charles (cantidad de monos: >500).

[00111] **Las Figuras 16A-16C** muestran los recuentos de neutrófilos de los macacos individuales tratados con las dosis indicadas de 25A3-MMAE en los grupos de tratamiento indicados. El promedio histórico proviene de valores de referencia recogidos de las colonias de monos en el río Charles (cantidad de monos: >500). **La Figura 16A** muestra el recuento de neutrófilos de los monos tratados con 1,5 mg/kg de 25A3-MMAE. **La Figura 16B** muestra el recuento de neutrófilos de los monos tratados con 3 mg/kg de 25A3-MMAE. **La Figura 16C** muestra el recuento de neutrófilos de los monos tratados con 6 mg/kg de 25A3-MMAE.

[00112] **Las Figuras 17A-17D** muestran los recuentos de neutrófilos de los macacos individuales tratados con las dosis indicadas de 25A3-LT-A en los grupos de tratamiento indicados. El promedio histórico proviene de valores de referencia recogidos de las colonias de monos en el río Charles (cantidad de monos: >500). **La Figura 17A** muestra el recuento de neutrófilos de los monos tratados con 3 mg/kg de 25A3-LT-A. La **Figura 17B** muestra el recuento de

neutrófilos de los monos tratados con 6 mg/kg de 25A3-LT-A. La **Figura 17C** muestra el recuento de neutrófilos de los monos tratados con 12 mg/kg de 25A3-LT-A. La **Figura 17D** muestra el recuento de neutrófilos de los monos tratados con 18 mg/kg de 25A3-LT-A. La **Figura 18** muestra el recuento de monocitos de los macacos tratados con las dosis indicadas de 25A3-LT-A o 25A3-MMAE en los días 1, 22 y 36 del estudio.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

1. Delimitaciones

[00113] A menos que se defina lo contrario, todos los términos del diseño, las anotaciones y demás terminología científica que se utiliza en el presente documento están previstos para tener el mismo significado que el comúnmente entendido por un experto en la técnica. En algunos casos, se definen en el presente documento términos con significados entendidos comúnmente para brindar claridad y/o referencia rápida y la inclusión de dichas definiciones en la presente no necesariamente debe ser interpretada como una diferencia de lo que en general se entiende en la materia. Las técnicas y procedimientos que se describen o a los que se hace referencia en el presente documento son las que comprenden y utilizan frecuentemente los expertos en la técnica, mediante el uso de metodologías convencionales, tales como, por ejemplo, las metodologías de clonación molecular ampliamente utilizadas que se describen en Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 4th ed. (2012) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY. Según corresponda, los procedimientos que impliquen el uso de paquetes y reactivos comercialmente disponibles se llevan a cabo generalmente de conformidad con los protocolos y condiciones definidos por el fabricante, salvo que se indique lo contrario.

[00114] Como se utiliza en el presente documento, las formas singulares “un”, “una”, y “el/la” incluyen referentes plurales, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Los términos “incluye”, “tal como”, “tales como” y similares están destinadas a transmitir la inclusión sin limitaciones, a menos que se indique específicamente lo contrario.

[00115] Tal como se utiliza en el presente documento, el término “que comprende” también incluye específicamente las realizaciones “que consisten en” y “que consisten fundamentalmente en” los elementos listados, a menos que se indique específicamente lo contrario.

[00116] El término “aproximadamente” indica y abarca un valor indicado y un intervalo por encima y por debajo de ese valor. En determinadas realizaciones, el término “aproximadamente” indica el valor designado ± el 10%, ± el 5% o ± el 1%. En determinadas realizaciones, cuando corresponda, el término “aproximadamente” indica los valores designados ± una desviación estándar de esos valores.

[00117] En este documento, los términos “factor tisular”, “TF”, “factor de tejido plaquetario”, “factor III”, “tromboplastina” y “CD142” se utilizan de forma intercambiable en el presente documento para referirse al TF o a cualquier variante (p. ej., variantes de empalme y variantes alélicas), isoformas y especies homólogas del TF que se expresan naturalmente mediante células o que se expresan mediante células transfectadas con un gen del TF. En algunos aspectos, la proteína del TF es una proteína del TF expresada naturalmente por un primate (p. ej., un mono o un humano), un roedor (p. ej., un ratón o una rata), un perro, un camello, un gato, una vaca, una cabra, un caballo, un cerdo o una oveja. En algunos aspectos, la proteína del TF es TF humano (hTF; SEQ ID n.º 809). En algunos aspectos, la proteína del TF es TF de macaco cangrejero (cTF; SEQ ID n.º 813). En algunos aspectos, la proteína del TF es TF de ratón (mTF; SEQ ID n.º 817). En algunos aspectos, la proteína del TF es TF de cerdo (pTF; SEQ ID n.º 824). El TF es un receptor de la superficie celular del factor VIIa, una proteasa de serina. A menudo, se expresa constitutivamente mediante ciertas células que rodean los vasos sanguíneos y en algunos entornos de enfermedad.

[00118] El término “conjugado de anticuerpos y fármacos” o “ADC” se refiere a un conjugado que comprende un anticuerpo conjugado con uno o más agentes citotóxicos, opcionalmente mediante uno o más conectores. El término

“conjugado de anticuerpos y fármacos anti-TF” o “ADC anti-TF” se refiere a un conjugado que comprende un anticuerpo conjugado anti-TF con uno o más agentes citotóxicos, opcionalmente mediante uno o más conectores.

[00119] Tal como se utiliza en el presente documento, los términos “anticuerpo TF”, “anticuerpo anti-TF” son sinónimos.

[00120] El término “agente citotóxico”, como se usa en el presente documento, se refiere a una sustancia que inhibe o previene una función celular y/o causa la muerte o destrucción celular. El agente citotóxico puede ser un antiangiogénico, un proapoptótico, un antimitótico, un anticinasa, un alquilante, una hormona, un agonista hormonal, un antagonista hormonal, una quimiocina, un fármaco, un profármaco, una toxina, una enzima, un antimetabolito, un antibiótico, un alcaloide o un isótopo radioactivo. Los agentes citotóxicos pueden ser la calicheamicina, camptocina, carboplatino, irinotecán, SN-38, carboplatino, camptotecán, ciclofosfamida, citarabina, dacarbacina, docetaxel, dactinomicina y daunorubicina, doxorubicina, doxorubicina, etopósido, idarubicina, topotecán, alcaloide de la vinca, maytansinoide, maitansinoide análogo, pirrolobenzodiacepina, taxoide, duocarmicina, dolastatina, auristatina y los derivados de estos.

[00121] Un “conector” se refiere a una molécula que conecta una composición con otra, p. ej., un anticuerpo con un agente. Los conectores descritos en el presente documento pueden conjugar un anticuerpo con un agente citotóxico. Los conectores pueden ser un conector lábil, un conector ácido lábil, un conector fotolábil, un conector cargado, un conector que contiene disulfuro, un conector sensible a la peptidasa, un conector de □-glucuronida, un conector de dimetilo, un conector de tioéter y un conector hidrófilo. Un conector puede ser escindible o no escindible.

[00122] El término “inmunoglobulina” se refiere a una clase de proteínas estructuralmente relacionadas que, por lo general, comprenden dos pares de cadenas polipeptídicas: un par de cadenas ligeras (L) y un par de cadenas pesadas (H). En una “inmunoglobulina intacta”, las cuatro cadenas están

interconectadas mediante enlaces disulfuro. La estructura de las inmunoglobulinas ha estado bien caracterizada. Ver, p. ej., Paul, *Fundamental Immunology* 7th ed., Ch. 5 (2013) Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA. Brevemente, cada cadena pesada suele comprender una región variable de la cadena pesada (V_H) y una región constante de la cadena pesada (C_H). La región constante de la cadena pesada suele comprender tres dominios, abreviados como C_{H1}, C_{H2} y C_{H3}. Cada cadena ligera suele comprender una región variable de la cadena ligera (V_L) y una región constante de la cadena ligera. La región constante de la cadena ligera suele comprender un dominio, abreviado como C_L.

[00123] El término “anticuerpo” se usa en el presente documento en su sentido más amplio e incluye ciertos tipos de moléculas de inmunoglobulina que comprenden uno o más dominios de unión a antígeno que se unen específicamente a un antígeno o epítopo. Un anticuerpo incluye específicamente anticuerpos intactos (por ejemplo, inmunoglobulinas intactas), fragmentos de anticuerpos y anticuerpos multiespecíficos.

[00124] El término “andamiaje alternativo” se refiere a una molécula en la que una o más regiones pueden diversificarse para producir uno o más dominios de unión a antígenos que se unen específicamente a un antígeno o epítopo. En algunas realizaciones, el dominio de unión a antígeno se une al antígeno o al epítopo con una especificidad y afinidad similares a las de un anticuerpo. Algunos ejemplos de andamiajes alternativos son los derivados de la fibronectina (p. ej., AdnectinsTM), el sándwich β (p. ej., iMab), la lipocalina (p. ej., Anticalins®), EETI-II/AGRP, BPTI/LACI-D1/ITI-D2 (p. ej., dominios Kunitz), aptámeros del péptido de tioredoxina, proteína A (p. ej., Affibody®), repeticiones de anquirina (p. ej., DARPins), gamma-B-cristalina/ubiquitina (p. ej., Affilins), CTLD3 (p. ej., tetranectinas), Fynomer y el módulo LDLR-A (p. ej., Avimers). Se ofrece más información sobre los andamiajes alternativos en Binz *et al.*, *Nat. Biotechnol.*, 2005 23:1257-1268; Skerra, *Current Opin. in Biotech.*, 2007 18:295-304; y Silacci *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 2014, 289:14392-14398; cuyos contenidos completos se incorporan como referencia en el presente documento.

[00125] El término “dominio de unión a antígeno” significa la porción de un anticuerpo que es capaz de unirse específicamente a un antígeno o epítopo. Un ejemplo de un dominio de unión a antígeno es un dominio de unión a antígeno que consiste en un dímero V_H-V_L de un anticuerpo. Otro ejemplo de un dominio de unión a antígeno es un dominio de unión a antígeno que consiste en la diversificación de ciertos bucles del décimo dominio de fibronectina tipo III de una adnectina. Los dominios de unión a antígeno pueden encontrarse en varios contextos, incluidos los anticuerpos y los receptores de antígenos quiméricos (CAR), por ejemplo, los CAR derivados de anticuerpos o fragmentos de anticuerpos como los scFv.

[00126] En el presente documento, los términos “anticuerpo de longitud completa”, “anticuerpo intacto” y “anticuerpo entero” se utilizan indistintamente para hacer referencia a un anticuerpo con una estructura sustancialmente similar a una estructura de anticuerpos natural, que tiene cadenas que comprenden una región Fc. Por ejemplo, cuando se utilizan para hacer referencia a una molécula de igG, un “anticuerpo de longitud completa” comprende dos cadenas pesadas y dos ligeras.

[00127] Por “región Fc” se entiende la región C-terminal de una cadena pesada de inmunoglobulinas que, en los anticuerpos naturales, interactúa con los receptores Fc y ciertas proteínas del sistema del complemento. En la técnica se conocen las estructuras de las regiones Fc de varias inmunoglobulinas y los sitios de glicosilación que contiene la presente. *Ver* Schroeder y Cavacini, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2010, 125:S41-52, cuyo contenido completo se incorpora como referencia en el presente documento. La región Fc puede ser una que se origine naturalmente o una región Fc modificada, tal como se describe en la técnica o en otras partes de esta divulgación.

[00128] Las regiones V_H y V_L pueden subdividirse a su vez en regiones de hipervariabilidad (“regiones hipervariables (HVR)”; también llamadas “regiones determinantes de la complementariedad” [CDR]) intercaladas con regiones más conservadas. Las regiones más conservadas se denominan regiones de

estructura (FR). Cada V_H y V_L suele comprender tres CDR y cuatro FR, dispuestas en el siguiente orden (de la N-terminal a la C-terminal): FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. Las CDR están involucradas en la unión al antígeno e influyen en la especificidad del antígeno y en la afinidad de unión del anticuerpo. *Ver* Kabat *et al.*, *Sequences of Proteins of Immunological Interest 5th ed.* (1991) Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, cuyo contenido completo se incorpora como referencia en el presente documento.

[00129] Una "región determinante complementaria (CDR)" se refiere a una de las tres regiones hipervariables (H1, H2 o H3) dentro de la región que no forma parte de la estructura en hoja β VH de inmunoglobulina (Ig o anticuerpo), o una de las tres regiones hipervariables (L1, L2 o L3) dentro de la región que no forma parte de la estructura en hoja β VL del anticuerpo. Las CDR son secuencias de regiones variables intercaladas dentro de las secuencias de regiones de estructura. Las CDR son muy reconocidas en la materia y Kabat, entre otros, las han definido como las regiones de mayor hipervariabilidad dentro de los dominios variables (V) de los anticuerpos. *Ver* Kabat *et al.*, *J Biol Chem*, 1977, 252:6609-6616 y Kabat, *Adv Protein Chem*, 1978, 32:1-75, cuyos contenidos completos se incorporan como referencia en el presente documento. Además, Chothia definió a las CDR de forma estructural como aquellos residuos que no forman parte de la estructura de hoja β conservada y, por lo tanto, son capaces de adaptar diferentes conformaciones. *Ver* Chothia y Lesk, *J Mol Biol*, 1987, 196:901-917, cuyo contenido completo se incorpora como referencia en el presente documento. La nomenclatura de Kabat y la de Chothia son muy conocidas en la materia. AbM, Contact e IMGT también definen las CDR. Las posiciones de las CDR dentro de un dominio de variables canónicas de anticuerpos se han determinado mediante la comparación de numerosas estructuras. *Ver* Morea *et al.*, *Methods*, 2000, 20:267-279 y Al-Lazikani *et al.*, *J Mol Biol*, 1997, 273:927-48, cuyos contenidos completos se incorporan como referencia en el presente

documento. Dado que la cantidad de residuos dentro de una región hipervariable varía en función de los diferentes anticuerpos, los otros residuos relativos a las posiciones canónicas se enumeran de manera tradicional con letras a, b, c y así sucesivamente, junto al número de residuo en el esquema de numeración de dominio variable canónico (Al-Lazikani *et al.*, *supra*). Los expertos en la materia conocen bien esta terminología.

[00130] Se están utilizando varias delimitaciones de regiones hipervariables que se incluyen en el presente documento. Las CDR de Kabat se basan en la variabilidad de la secuencia y son las que se utilizan con más frecuencia. *Ver* Kabat *et al.* (1992) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, DIANE Publishing: 2719, cuyo contenido completo se incorpora como referencia en el presente documento. En cambio, Chothia se refiere a la ubicación de los bucles estructurales (Chothia y Lesk, *supra*). Las regiones hipervariables AbM representan un compromiso entre las CDR de Kabat y los bucles estructurales de Chothia, y se utilizan en el software de modelado de anticuerpos AbM de Oxford Molecular. Las regiones hipervariables de Contact se basan en un análisis de las complejas estructuras cristalinas disponibles. Los residuos de cada una de estas regiones hipervariables se presentan en la **Tabla 1**.

[00131] Más recientemente, se ha desarrollado y adoptado de forma generalizada el sistema de numeración universal ImMunoGeneTics (IMGT) Information System™. *Ver* Lefranc *et al.*, *Dev Comp Immunol*, 2003, 27:55-77, cuyo contenido completo se incorpora como referencia en el presente documento. El IMGT es un sistema de información integrado especializado en inmunoglobulinas (IG), receptores de linfocitos T (TR) y el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de los humanos y otros vertebrados. Se hace referencia a las CDR de IMGT en términos de la secuencia de aminoácidos y de la ubicación dentro de la cadena ligera o pesada. Dado que la “ubicación” de las CDR dentro de la estructura del dominio variable de las inmunoglobulinas se conserva entre especies y está presente en las estructuras denominadas “bucles”, las CDR y los residuos de la estructura se identifican fácilmente

mediante el empleo de sistemas de numeración que alinean las secuencias de dominio variable según las características estructurales. La correspondencia entre la numeración de Kabat, Chothia e IMGT también es muy conocida en la materia (Lefranc *et al.*, *supra*). El sistema de ejemplo que se muestra en el presente documento combina las definiciones de CDR de Kabat y Chothia.

Tabla 1

	De ejemplo (Kabat + Chothia)	**Kabat**	**Chothia**	**AbM**	**Contacto**	**IMGT**
VH CDR1	26-35	31-35	26-32	26-35	30-35	27-38
VH CDR2	50-65	50-65	52a-55	50-58	47-58	56-65
VH CDR3	95-102	95-102	96-101	95-102	93-101	105-117
VL CDR1	24-34	24-34	26-32	24-34	30-36	27-38
VL CDR2	50-56	50-56	50-52	50-56	46-55	56-65
VL CDR3	89-97	89-97	91-96	89-97	89-96	105-117

[00132] La cadena ligera de cualquier especie de vertebrado puede asignarse a uno de dos tipos, llamados kappa (κ) y lambda (λ), en virtud de la secuencia de su dominio constante.

[00133] La cadena pesada de cualquier especie de vertebrado puede asignarse a una de cinco clases diferentes (o isotipos): IgA, IgD, IgE, IgG e IgM. Estas clases también se designan α, δ, ε, γ y μ, respectivamente. A su vez, las clases IgG e IgA se dividen en subclases en virtud de las diferencias en la secuencia y la función. Los seres humanos expresan las siguientes subclases: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 y IgA2.

[00134] El término “región constante” o “dominio constante” se refiere a una porción del terminal carboxi de las cadenas ligera y pesada que no está directamente implicada en la unión del anticuerpo con el antígeno, pero que exhibe diversas funciones efectoras, tal como la interacción con el receptor Fc.

Los términos se refieren a la porción de una molécula de inmunoglobulina que tiene una secuencia de aminoácidos más conservada en relación con la otra porción de la inmunoglobulina, el dominio variable, que contiene el sitio de unión al antígeno. El dominio constante contiene los dominios C_{H1}, C_{H2} y C_{H3} de la cadena pesada y el dominio C_L de la cadena ligera.

[00135] Por lo general, el "esquema de numeración de la UE" se refiere a un residuo en una región constante de cadena pesada de anticuerpos (p. ej., como se informa en Kabat *et al.*, *supra*). A menos que se indique lo contrario, el esquema de numeración de la UE se utiliza para referirse a los residuos en las regiones constantes de la cadena pesada de anticuerpos descritas en el presente documento.

[00136] Los "fragmentos de los anticuerpos" comprenden una parte de un anticuerpo intacto, en particular, la región de unión al antígeno o la región variable del anticuerpo intacto. Los fragmentos de anticuerpos incluyen, por ejemplo, fragmentos Fv, fragmentos Fab, fragmentos $F(ab')_2$, fragmentos Fab', fragmentos scFv (sFv) y fragmentos scFv-Fc.

[00137] Los fragmentos "Fv" comprenden un dímero unido de manera no covalente de un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera.

[00138] Los fragmentos "Fab" comprenden, además de los dominios variables de la cadena pesada y ligera, el dominio constante de la cadena ligera y el primer dominio constante (C_{H1}) de la cadena pesada. Los fragmentos Fab pueden generarse, por ejemplo, mediante métodos recombinantes o por digestión con papaína de un anticuerpo de longitud completa.

[00139] Los fragmentos "$F(ab')_2$" contienen dos fragmentos Fab' unidos, cerca de la región de la bisagra, por enlaces disulfuro. Los fragmentos $F(ab')_2$ pueden generarse, por ejemplo, mediante métodos recombinantes o por digestión con pepsina de un anticuerpo intacto. Los fragmentos F(ab') se pueden disociar, por ejemplo, mediante tratamiento con ß-mercaptoetanol.

[00140] Los fragmentos de anticuerpos “Fv de cadena única”, “sFv” o “scFv” comprenden un dominio V_H y un dominio V_L en una sola cadena polipeptídica. Por lo general, el V_H y el V_L están unidos mediante un conector peptídico. *Ver* Plückthun A. (1994). Puede utilizarse cualquier conector adecuado. En algunas realizaciones, el conector es un $(GGGGS)_n$ (SEQ ID n.º 823). En algunas realizaciones, n = 1, 2, 3, 4, 5 o 6. *Ver* los anticuerpos de *Escherichia coli*. en Rosenberg M. & Moore G.P. (Eds.), *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies* vol. 113 (págs. 269-315). Springer-Verlag, New York, cuyo contenido completo se incorpora como referencia en el presente documento.

[00141] Los fragmentos “scFv-Fc” comprenden un scFv unido a un dominio Fc. Por ejemplo, un dominio Fc puede estar unido al extremo C-terminal del scFv. El dominio Fc puede seguir a V_H o V_L, en virtud de la orientación de los dominios variables en scFv (es decir, V_H -V_L o V_L -V_H). Se puede usar cualquier dominio Fc adecuado conocido en la técnica o descrito en el presente documento.

[00142] El término “anticuerpo monodominio” se refiere a una molécula en la que un dominio variable de un anticuerpo se une específicamente a un antígeno sin la presencia del otro dominio variable. Los anticuerpos de dominio único, y los fragmentos de estos, se describen en Arabi Ghahroudi *et al.*, *FEBS Letters*, 1998, 414:521-526 y Muyldermans *et al.*, *Trends in Biochem. Sci.*, 2001, 26:230-245, cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad. Los anticuerpos de dominio único también se conocen como sdAbs o nanocuerpos.

[00143] Un “anticuerpo multiespecífico” es un anticuerpo que comprende dos o más dominios de unión a antígeno diferentes que se unen en conjunto específicamente a dos o más epítopos diferentes. Dos o más epítopos diferentes pueden ser epítopos en el mismo antígeno (p. ej., una sola molécula de TF expresada por una célula) o en diferentes antígenos (p. ej., una molécula de TF y una molécula que no es de TF). En algunos aspectos, un anticuerpo multiespecífico se une a dos epítopos diferentes (es decir, un “anticuerpo biespecífico”). En algunos aspectos, un anticuerpo multiespecífico se une a tres epítopos diferentes (es decir, un “anticuerpo triespecífico”). En algunos aspectos,

un anticuerpo multiespecífico se une a tres epítopos diferentes (es decir, un “anticuerpo tetraespecífico”). En algunos aspectos, un anticuerpo multiespecífico se une a cinco epítopos diferentes (es decir, un “anticuerpo pentaespecífico”). En algunos aspectos, un anticuerpo multiespecífico se une a 6, 7, 8 o más epítopos diferentes. Cada especificidad de unión puede presentarse en cualquier valencia adecuada. En otra parte de esta divulgación se ofrecen ejemplos de anticuerpos multiespecíficos.

[00144] Un “anticuerpo monoespecífico” es un anticuerpo que comprende uno o más sitios de unión que se unen específicamente a un único epítopo. Un ejemplo de un anticuerpo monoespecífico es una molécula de IgG de origen natural que, si bien es divalente (es decir, tiene dos dominios de unión a antígeno), reconoce el mismo epítopo en cada uno de los dos dominios de unión a antígeno. La especificidad de unión puede estar presente en cualquier valencia adecuada.

[00145] El término “anticuerpo monoclonal” se refiere a un anticuerpo de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos. Una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos comprende anticuerpos que son sustancialmente similares y que se unen a los mismos epítopos, a excepción de las variantes que normalmente pueden surgir durante la producción del anticuerpo monoclonal. Dichas variantes generalmente están presentes solo en cantidades menores. Un anticuerpo monoclonal se obtiene normalmente mediante un proceso que incluye la selección de un solo anticuerpo de una pluralidad de anticuerpos. Por ejemplo, el proceso de selección puede ser la selección de un clon único de una pluralidad de clones, como un conjunto de clones de hibridoma, clones de fagos, clones de levadura, clones bacterianos u otros clones de DNA recombinante. El anticuerpo seleccionado puede alterarse adicionalmente, por ejemplo, para mejorar la afinidad por el objetivo (“maduración de afinidad”), humanizar el anticuerpo, mejorar su producción en cultivo celular y/o reducir su inmunogenia en un sujeto.

[00146] El término “anticuerpo quimérico” hace referencia a un anticuerpo en el que una porción de la cadena liviana y/o pesada deriva de una fuente o especie

en particular, mientras que el resto de la cadena ligera y/o pesada deriva de una fuente o especie diferente.

[00147] Las formas “humanizadas” de anticuerpos no humanos son anticuerpos quiméricos que contienen una secuencia mínima derivada del anticuerpo no humano. Por lo general, un anticuerpo humanizado es un anticuerpo humano (anticuerpo receptor) en el que los residuos de una o más CDR son reemplazados por residuos de una o más CDR de un anticuerpo no humano (anticuerpo donante). El anticuerpo donante puede ser cualquier anticuerpo no humano adecuado, como el de un ratón, una rata, un conejo, un pollo o un primate no humano que tenga una especificidad, afinidad o efecto biológico deseados. En algunos casos, los residuos de la región de la estructura seleccionada del anticuerpo receptor se sustituyen por los residuos de la región de la estructura correspondiente del anticuerpo del donante. Los anticuerpos humanizados también pueden comprender residuos que no se encuentran en el anticuerpo receptor ni en el anticuerpo donante. Se pueden hacer esas modificaciones para perfeccionar la función de los anticuerpos. Para obtener más información, *ver* Jones *et al.*, *Nature*, 1986, 321:522-525; Riechmann *et al.*, *Nature*, 1988, 332:323-329 y Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.*, 1992, 2:593-596, cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad.

[00148] Un “anticuerpo humano” es el que posee una secuencia de aminoácidos correspondiente al de un anticuerpo producido por un humano o una célula humana, o que deriva de una fuente no humana que utiliza repertorios de anticuerpos humanos u otras secuencias de codificación de anticuerpos humanos, (p. ej., los que se obtienen a partir de fuentes humanas o diseñadas *de novo*). Los anticuerpos humanos excluyen específicamente los anticuerpos humanizados.

[00149] Un “anticuerpo aislado” o “ácido nucleico aislado” es un anticuerpo o ácido nucleico que se ha separado y/o recuperado de un componente de su entorno natural. Los componentes del entorno natural pueden incluir enzimas, hormonas y otros materiales proteínicos o no proteínicos. En algunas

realizaciones, un anticuerpo aislado se purifica hasta alcanzar un grado suficiente como para obtener al menos 15 residuos de la secuencia N-terminal o de aminoácidos interna, por ejemplo, mediante el uso de un secuenciador de copa giratoria. En algunas realizaciones, un anticuerpo aislado se purifica hasta alcanzar la homogeneidad mediante electroforesis en gel (p. ej., SDS-PAGE) con o sin reducción, con detección por medio de la tinción con azul de Coomassie o plata. En algunas realizaciones, un anticuerpo aislado puede incluir un anticuerpo *in situ* dentro de las células recombinantes, ya que al menos un componente del entorno natural del anticuerpo no está presente. En algunos aspectos, un anticuerpo aislado o un ácido nucleico aislado se prepara mediante al menos un paso de purificación. En algunas realizaciones, un anticuerpo aislado o un ácido nucleico aislado se purifica al menos en un 80%, 85%, 90%, 95% o 99% en peso. En algunas realizaciones, un anticuerpo aislado o un ácido nucleico aislado se purifica al menos en un 80%, 85%, 90%, 95% o 99% en volumen. En algunas realizaciones, un anticuerpo aislado o un ácido nucleico aislado se proporciona como una solución que comprende al menos un 85%, 90%, 95%, 98%, 99% a 100% de anticuerpo o ácido nucleico en peso. En algunas realizaciones, un anticuerpo aislado o un ácido nucleico aislado se proporciona como una solución que comprende al menos un 85%, 90%, 95%, 98%, 99% a 100% de anticuerpo o ácido nucleico en volumen.

[00150] “Afinidad” se refiere a la fuerza de la suma total de interacciones no covalentes entre un sitio de unión única de una molécula (p. ej., un anticuerpo) y su compañero de unión (p. ej., un antígeno o epítopo). A menos que se indique lo contrario, tal como se utiliza en el presente documento, “afinidad” se refiere a la afinidad intrínseca de unión, que refleja una interacción 1:1 entre los miembros de un par de unión (p. ej., anticuerpo y antígeno o epítopo). La afinidad de una molécula X por su compañero Y puede representarse mediante la constante de disociación de equilibrio (K_D). Los componentes cinéticos que contribuyen a la constante de disociación de equilibrio se describen con más detalle a continuación. La afinidad se puede medir mediante métodos comunes conocidos

en la materia, incluidos aquellos descritos en el presente documento, tal como la tecnología de la resonancia del plasmón superficial (SPR) (p. ej., BIACORE®) o la interferometría de biocapa (p. ej., FORTEBIO®).

[00151] Respecto de la unión de un anticuerpo a una molécula diana, los términos “unión”, “unión específica”, “se une específicamente”, “específico de”, “se une selectivamente” y “selectivo de” un antígeno particular (p. ej., un polipéptido diana) o un epítopo en un antígeno particular significan una unión que es mediblemente diferente de una interacción no específica o no selectiva (p. ej., una molécula no diana). La unión específica se puede medir, por ejemplo, al medir la unión a una molécula diana y compararla a la unión de una molécula no diana. La unión específica también se puede determinar mediante la competición con una molécula de control que imita al epítope reconocido en la molécula diana. En ese caso, la unión específica se indica si la unión del anticuerpo a la molécula diana es competitivamente inhibida por la molécula de control. En algunos aspectos, la afinidad de un anticuerpo TF con una molécula no diana es menor que aproximadamente el 50% de la afinidad con el TF. En algunos aspectos, la afinidad de un anticuerpo TF con una molécula no diana es menor que aproximadamente el 40% de la afinidad con el TF. En algunos aspectos, la afinidad de un anticuerpo TF con una molécula no diana es menor que aproximadamente el 30% de la afinidad con el TF. En algunos aspectos, la afinidad de un anticuerpo TF con una molécula no diana es menor que aproximadamente el 20% de la afinidad con el TF. En algunos aspectos, la afinidad de un anticuerpo TF con una molécula no diana es menor que aproximadamente el 10% de la afinidad con el TF. En algunos aspectos, la afinidad de un anticuerpo TF con una molécula no diana es menor que aproximadamente el 1% de la afinidad con el TF. En algunos aspectos, la afinidad de un anticuerpo TF con una molécula no diana es menor que aproximadamente el 0,1% de la afinidad con el TF.

[00152] El término "k_d" (seg^{-1}), tal como se lo utiliza en el presente documento, se refiere a la constante de velocidad de disociación de una interacción anticuerpo/antígeno en particular. A este valor también se lo denomina valor k_{off}.

[00153] El término "k_a" ($M^{-1} \times seg^{-1}$), tal como se lo utiliza en el presente documento, se refiere a la constante de velocidad de asociación de una interacción anticuerpo/antígeno en particular. A este valor también se lo denomina valor k_{on}.

[00154] El término "K_D" (M), tal como se lo utiliza en el presente documento, se refiere a la constante de equilibrio de disociación de una interacción anticuerpo/antígeno en particular. $K_D = k_d/k_a$. En algunas realizaciones, la afinidad de un anticuerpo se describe en términos del K_D para la interacción entre dicho anticuerpo y su antígeno. Para más claridad, tal como se conoce en la técnica, un valor de K_D menor indica una interacción de afinidad mayor, mientras que un valor de K_D mayor indica una interacción de afinidad menor.

[00155] El término "K_A" (M^{-1}), tal como se lo utiliza en el presente documento, hace referencia a la constante de equilibrio de asociación de una interacción anticuerpo/antígeno en particular. $K_A = k_a/k_d$.

[00156] Un anticuerpo "madurado por afinidad" es un anticuerpo con una o más alteraciones (p. ej., en una o más CDR o FR) en relación con un anticuerpo original (es decir, un anticuerpo del que se deriva o diseña el anticuerpo alterado) que da lugar a una mejora en la afinidad del anticuerpo por su antígeno, en comparación con el anticuerpo original que no presenta las alteraciones. En algunas realizaciones, un anticuerpo madurado por afinidad tiene afinidad nanomolar o picomolar por el antígeno objetivo. Los anticuerpos madurados por afinidad pueden producirse mediante una variedad de métodos conocidos en la materia. Por ejemplo, Marks *et al.* (*Bio/Technology*, 1992, 10:779-783, cuyo contenido completo se incorpora como referencia en el presente documento) describe la maduración por afinidad mediante la mezcla de dominios V_H y V_L. La mutagénesis aleatoria de los residuos de CDR y/o de la estructura se describe, por ejemplo, en Barbas *et al.*, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 1994, 91:3809-3813;

Schier *et al.*, *Gene*, 1995, 169:147-155; Yelton *et al.*, *J. Immunol.*, 1995, 155:1994-2004; Jackson *et al.*, *J. Immunol.*, 1995, 154:3310-33199; y Hawkins *et al, J. Mol. Biol.*, 1992, 226:889-896; cuyos contenidos completos se incorporan como referencia en el presente documento.

[00157] Las “funciones efectoras de Fc” se refieren a aquellas actividades biológicas mediadas por la región Fc de un anticuerpo, cuyas actividades pueden variar en virtud del isotipo del anticuerpo. Los ejemplos de funciones efectoras de anticuerpos incluyen la unión de C1q para activar la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC), la unión del receptor Fc para activar la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) y la fagocitosis celular dependiente de anticuerpos (ADCP).

[00158] Cuando se use en el presente documento en el contexto de dos o más anticuerpos, el término “compite con” o “compite de forma entrecruzada con” indica que los dos o más anticuerpos compiten por la unión a un antígeno (p. ej., TF). En un ensayo de ejemplo, TF se recubre en una superficie y se contacta con un primer anticuerpo TF, tras lo que se añade un segundo anticuerpo TF. En otro ensayo ejemplar, un primer anticuerpo TF se recubre en una superficie y se contacta con un TF, tras lo que se añade un segundo anticuerpo TF. Si la presencia del primer anticuerpo TF reduce la unión del segundo anticuerpo TF, en cualquiera de los ensayos, entonces los anticuerpos compiten entre sí. El término “compite con” también incluye combinaciones de anticuerpos donde uno de ellos reduce la unión de otro anticuerpo, pero donde no se observa competencia cuando los anticuerpos se añaden en el orden contrario. Sin embargo, en algunas realizaciones, el primer y el segundo anticuerpo inhiben la unión del otro, independientemente del orden en el que se los añade. En algunas realizaciones, un anticuerpo reduce la unión de otro anticuerpo a su antígeno en al menos un 25%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90% o al menos un 95%. Un experto en la materia puede seleccionar las concentraciones de los anticuerpos utilizados en los ensayos de competición según las afinidades de los anticuerpos

con TF y la valencia de los anticuerpos. Los ensayos descritos en esta definición son ilustrativos y una persona experta en la materia puede usar cualquier ensayo apto para determinar si los anticuerpos compiten entre sí. Algunos ensayos aptos se describen en, por ejemplo, Cox *et al.*, "Immunoassay Methods," en *Assay Guidance Manual [Internet]*, actualizado el 24 de diciembre de 2014 (www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92434/; consultado el 29 de septiembre de 2015); Silman *et al.*, *Cytometry*, 2001, 44:30-37; y Finco *et al.*, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2011, 54:351-358; cuyos contenidos completos se incorporan como referencia en el presente documento. Como se indica en el **Ejemplo 8** de la PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019, los anticuerpos del grupo 25 y los anticuerpos del grupo 43 compiten entre sí por la unión al TF humano, mientras que los anticuerpos de los grupos 1, 29, 39 y 54 no compiten por la unión al TF humano con los anticuerpos de los grupos 25 y 43.

[00159] Tal como se utiliza en el presente documento, se considera que un anticuerpo que se une específicamente a un antígeno humano se une al mismo antígeno de origen murino cuando se puede medir un valor de K_D en un ForteBio Octeto con el antígeno del ratón. Se considera que un anticuerpo que se une específicamente a un antígeno humano presenta una "reacción cruzada" con el mismo antígeno de origen murino cuando el valor de K_D del antígeno murino es menor que o igual a 20 veces el valor de K_D correspondiente del respectivo antígeno humano. Por ejemplo, el anticuerpo M1593 que se describe en la Patente de los EE. UU. n.º 8,722,044, n.º 8,951,525 y n.º 8,999,333, cuyos contenidos se incorporan como referencia en el presente documento para todos los fines, el anticuerpo humanizado 5G9 descrito en Ngo *et al.*, 2007, *Int J Cancer*, 120(6):1261-1267, cuyo contenido completo se incorpora como referencia, y el anticuerpo quimérico ALT-836 que se describe en Hong *et al.*, 2012, *J Nucl Med*, 53(11):1748-1754, cuyo contenido completo se incorpora como referencia, no se unen al TF murino. Como se indica en los **Ejemplos 1 y 2** de la PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019, los anticuerpos

TF de los grupos 25 y 43 se unen al TF murino, p. ej., los anticuerpos TF 25G, 25G1, 25G9 y 43D8 presentan una reacción cruzada con el TF murino.

[00160] Tal como se utiliza en el presente documento, un anticuerpo que se une específicamente a un antígeno humano presenta una “reacción cruzada” con el mismo antígeno proveniente del macaco cangrejero cuando el valor de K_D del antígeno del macaco cangrejero es menor que o igual a 15 veces el valor de K_D correspondiente del respectivo antígeno humano. Como se indica en el **Ejemplo 1** de la PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019, todos los anticuerpos analizados de los grupos 1, 25, 29, 39, 43 y 54 presentan una reacción cruzada con el TF del macaco cangrejero.

[00161] El término “epítopo” significa una porción de un antígeno al cual se une específicamente un anticuerpo. Por lo general, los epítopos consisten en residuos de aminoácidos accesibles en la superficie y/o cadenas laterales de azúcar y pueden tener características estructurales específicas tridimensionales, así como características de carga específica. Los epítopos conformacionales y no conformacionales se distinguen en que la unión de los conformacionales, a diferencia de los no conformacionales, puede perderse en presencia de solventes de desnaturalización. Un epítopo puede comprender residuos de aminoácidos que están directamente relacionados en la unión, y otros residuos de aminoácidos, que no están directamente relacionados en la unión. El epítopo, al cual se une un anticuerpo, se puede determinar mediante el uso de técnicas conocidas para la determinación de epítopos tales como, por ejemplo, evaluar la unión del anticuerpo con variantes de TF con diferentes puntos de mutación o a variantes de TF quimérico.

[00162] La “identidad” porcentual entre una secuencia de polipéptidos y una secuencia de referencia se define como el porcentaje de residuos de aminoácidos en la secuencia de polipéptidos que son idénticos a los residuos de aminoácidos en la secuencia de referencia, después de alinear las secuencias e introducir *gaps*, si es necesario, para lograr el máximo porcentaje de identidad de secuencia. La alineación para determinar el porcentaje de identidad de

secuencia de aminoácidos puede lograrse de varias maneras que forman parte de la experiencia en la materia, por ejemplo, mediante programas informáticos de acceso público como BLAST, BLAST-2, ALIGN, MEGALIGN (DNASTAR), CLUSTALW, CLUSTAL OMEGA o MUSCLE. Las personas expertas en la materia pueden determinar parámetros adecuados para la alineación de las secuencias, incluido cualquier algoritmo necesario para lograr la alineación máxima en la longitud completa de las secuencias que se comparan.

[00163] Una “sustitución conservadora” o una “sustitución conservadora de aminoácidos” se refiere a la sustitución de un aminoácido por un aminoácido química o funcionalmente similar. Las tablas de sustituciones conservadoras con las que se obtienen aminoácidos similares son muy conocidas en la materia. A modo de ejemplo, los grupos de aminoácidos que figuran en las **Tablas 2 a 4** se consideran, en algunas realizaciones, sustituciones conservadoras entre sí.

Tabla 2: Grupos seleccionados de aminoácidos que se consideran sustituciones conservadoras entre sí, en algunas realizaciones.

Residuos acídicos	D y E
Residuos básicos	K, R y H
Residuos hidrófilos descargados	S, T, N y Q
Residuos alifáticos descargados	G, A, V, L e I
Residuos no polares descargados	C, M y P
Residuos aromáticos	F, Y y W

Tabla 3: Otros grupos seleccionados de aminoácidos que se consideran sustituciones conservadoras entre sí, en algunas realizaciones.

Grupo 1	A, S y T
Grupo 2	D y E
Grupo 3	N y Q
Grupo 4	R y K
Grupo 5	I, L y M

Grupo 6	F, Y y W

Tabla 4: Más grupos seleccionados de aminoácidos que se consideran sustituciones conservadoras entre sí, en algunas realizaciones.

Grupo A	A y G
Grupo B	D y E
Grupo C	N y Q
Grupo D	R, K y H
Grupo E	I, L, M y V
Grupo F	F, Y y W
Grupo G	S y T
Grupo H	C y M

[00164] Otras sustituciones conservadoras pueden encontrarse, por ejemplo, en Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties* 2nd ed. (1993) W. H. Freeman & Co., New York, NY. Un anticuerpo generado por la realización de una o más sustituciones conservadoras de los residuos de aminoácidos en un anticuerpo original se denomina “variante modificada de forma conservadora”.

[00165] El término “aminoácido” se refiere a los veinte aminoácidos naturales comunes. Los aminoácidos naturales incluyen: alanina (Ala; A), arginina (Arg; R), asparagina (Asn; N), ácido aspártico (Asp; D), cisteína (Cys; C); ácido glutámico (Glu; E), glutamina (Gln; Q), Glicina (Gly; G); histidina (His; H), isoleucina (Ile; I), leucina (Leu; L), lisina (Lys; K), metionina (Met; M), fenilalanina (Phe; F), prolina (Pro; P), serina (Ser; S), treonina (Thr; T), triptófano (Trp; W), tirosina (Tyr; Y) y valina (Val; V).

[00166] El término “vector”, como se usa en el presente documento, se refiere a una molécula de ácido nucleico capaz de propagar otro ácido nucleico al que está unida. El término incluye el vector como una estructura de ácido nucleico autorreplicante, así como el vector incorporado en el genoma de una célula hospedadora en la que se ha introducido. Ciertos vectores son capaces de dirigir

la expresión de ácidos nucleicos a los que están unidos operativamente. Dichos vectores se denominan en el presente documento “vectores de expresión”.

[00167] Los términos “célula hospedadora”, “línea de células hospedadoras” y “cultivo de células hospedadoras” se usan indistintamente y se refieren a células en las que se ha introducido un ácido nucleico exógeno, y la progenie de tales células. Las células hospedadoras incluyen “transformantes” (o “células transformadas”) y “transfectantes” (o “células transfectadas”), que incluyen la célula primaria transformada o transfectada y la progenie derivada de esta. Tal progenie puede no ser completamente idéntica en contenido de ácido nucleico a una célula parental, y puede contener mutaciones.

[00168] El término “tratar” (y variaciones de este, como “tratar” o “tratamiento”) se refiere a la intervención clínica en un intento de alterar la evolución natural de una enfermedad o afección en un sujeto que lo necesita. El tratamiento se puede realizar por motivos de prevención y durante el curso de la patología clínica. Los efectos deseables del tratamiento incluyen la prevención de la ocurrencia o recurrencia de la enfermedad, el alivio de los síntomas, la disminución de cualquier consecuencia patológica directa o indirecta de la enfermedad, la prevención de la metástasis, la disminución de la tasa de progresión de la enfermedad, la mejora o la paliación del estado de la enfermedad y la remisión o mejora del pronóstico.

[00169] Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión “cantidad terapéutica eficaz” o “cantidad eficaz” se refiere a la cantidad de un anticuerpo o composición farmacéutica que se da a conocer en el presente documento que, cuando se administra a un sujeto, es eficaz para tratar una enfermedad o trastorno.

[00170] Tal como se utiliza en el presente documento, el término o “sujeto” se refiere a un sujeto mamífero. Los sujetos pueden ser humanos, monos, perros, gatos, ratones, ratas, vacas, caballos, camellos, cabras, conejos y ovejas. En determinadas realizaciones, el sujeto es un humano. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una enfermedad o afección que puede tratarse con un anticuerpo

provisto en el presente documento. En algunos aspectos, la enfermedad o afección es un cáncer. En algunos aspectos, la enfermedad o afección involucra la neovascularización o la inflamación vascular. En determinados aspectos, la enfermedad o afección que involucra la neovascularización es el cáncer.

[00171] El término “prospecto” se refiere a las instrucciones habitualmente incluidas en los paquetes comerciales de los productos terapéuticos o de diagnóstico (p. ej., equipos) que contienen información sobre indicaciones, uso, dosis, administración, tratamiento combinado, contraindicaciones y/o advertencias sobre la administración de tales productos terapéuticos o de diagnóstico.

[00172] Un “agente quimioterapéutico” se refiere a un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer. Los agentes quimioterapéuticos incluyen “agentes antihormonales” o “agentes terapéuticos endocrinos” que actúan para regular, reducir, bloquear o inhibir los efectos de las hormonas que pueden promover el crecimiento del cáncer.

[00173] El término “agente citostático” se refiere a un compuesto o una composición que detiene el crecimiento de una célula *in vitro* o *in vivo*. En algunas realizaciones, un agente citostático es un agente que reduce el porcentaje de células en fase S. En algunas realizaciones, un agente citostático reduce el porcentaje de células en fase S en al menos aproximadamente un 20%, al menos aproximadamente un 40%, al menos aproximadamente un 60% o al menos aproximadamente un 80%.

[00174] El término “composición farmacéutica” se refiere a una preparación que tiene una forma que permite que la actividad biológica de un ingrediente activo contenido en el mismo sea eficaz en el tratamiento de un sujeto, y que no contiene componentes adicionales que sean inaceptablemente tóxicos para el sujeto en las cantidades proporcionadas en la composición farmacéutica.

[00175] Los términos “modular” y “modulación” se refieren a reducir o inhibir o, alternativamente, activar o aumentar, una variable listada.

[00176] Los términos “aumentar” y “activar” se refieren a un aumento del 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, de 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces, 100 veces o más en una variable listada.

[00177] Los términos “reducir” e “inhibir” se refieren a una disminución del 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, de 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 10 veces, 20 veces, 50 veces, 100 veces o más en una variable listada.

[00178] El término “agonizar” se refiere a la activación de la señalización del receptor para inducir una respuesta biológica asociada con la activación del receptor. Un “agonista” es una entidad que se une y agoniza a un receptor.

[00179] El término “antagonizar” se refiere a la inhibición de la señalización del receptor para inhibir una respuesta biológica asociada con la activación del receptor. Un “antagonista” es una entidad que se une y antagoniza a un receptor.

[00180] “Alquilo” se refiere a un radical de cadena recta o a un grupo de hidrocarburos saturados ramificado que tienen de 1 a 20 átomos de carbono (“alquilo $C_{1–20}$”). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 12 átomos de carbono (“alquilo C_{1-12}”). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 10 átomos de carbono (“alquilo C_{1-10}”). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 9 átomos de carbono (“alquilo C_{1-9}”). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 8 átomos de carbono (“alquilo C_{1-8}”). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 7 átomos de carbono (“alquilo C_{1-7}”). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono (“alquilo $C_{1–6}$”, que también se denomina en el presente documento “alquilo inferior”). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 5 átomos de carbono (“alquilo C_{1-5}”). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 4 átomos de carbono (“alquilo C_{1-4}”). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 3 átomos de carbono (“alquilo C_{1-3}”). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 1 a 2 átomos de carbono (“alquilo C_{1-2}”). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene 1 átomo de carbono (“alquilo

C_1"). En algunas realizaciones, un grupo alquilo tiene de 2 a 6 átomos de carbono ("alquilo C_{2-6}"). Ejemplo de grupos alquilos $C_{1–6}$ incluyen metilo (C_1), etilo (C_2), n-propilo (C_3), isopropilo (C_3), n-butilo (C_4), tert-butilo (C_4), sec-butilo (C_4), iso-butilo (C_4), n-pentilo (C_5), 3-pentanilo (C_5), amilo (C_5), neopentilo (C_5), 3-metil-2-butanilo (C_5), amilo terciario (C_5) y n-hexilo (C_6). Otros ejemplos de grupos alquilos incluyen n-heptilo (C_7), n-octilo (C_8) y similares. A menos que se especifique lo contrario, cada instancia de un grupo alquilo se sustituye opcionalmente de manera independiente; es decir, no se sustituye (un "alquilo no sustituido") o se sustituye (un "alquilo sustituido") con uno o más sustituyentes; p. ej., de 1 a 5 sustituyentes, 1 a 3 sustituyentes o 1 sustituyente. En determinadas realizaciones, el grupo alquilo es un alquilo $C_{1–10}$ no sustituido (p. ej., $–CH_3$). En determinadas realizaciones, el grupo alquilo es un alquilo $C_{1–10}$ sustituido. Las abreviaturas típicas de los alquilos incluyen Me ($-CH_3$), Et ($-CH_2CH_3$), iPr ($-CH(CH_3)_2$), nPr ($-CH_2CH_2CH_3$), n-Bu ($-CH_2CH_2CH_2CH_3$) o i-Bu ($-CH_2CH(CH_3)_2$).

[00181] "Alquileno" se refiere a un grupo alquilo en el que se eliminan dos hidrógenos para proporcionar un radical divalente, que puede además ser sustituido o no sustituido. Los grupos alquilenos no sustituidos incluyen, a mero título enunciativo, metileno ($-CH_2-$), etileno ($-CH_2CH_2-$), propileno ($-CH_2CH_2CH_2-$), butileno ($-CH_2CH_2CH_2CH_2-$), pentileno ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$), hexileno ($-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$) y similares. Los ejemplos de grupos alquilenos sustituidos, p. ej., sustituidos con uno o más grupos alquilos (metilo) incluyen, a mero título enunciativo, metileno sustituido ($-CH(CH_3)-$, $-C(CH_3)_2-$), etileno sustituido ($-CH(CH_3)CH_2-$,$-CH_2CH(CH_3)-$, $-C(CH_3)_2CH_2-$,$-CH_2C(CH_3)_2-$), propileno sustituido ($-CH(CH_3)CH_2CH_2-$, $-CH_2CH(CH_3)CH_2-$, $-CH_2CH_2CH(CH_3)-$, $-C(CH_3)_2CH_2CH_2-$, $-CH_2C(CH_3)_2CH_2-$, $-CH_2CH_2C(CH_3)_2-$) y similares.

[00182] "Halo" o "halógeno" se refiere al flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br) y yodo (I). En determinadas realizaciones, el grupo halo es flúor o cloro.

[00183] Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "grupo autoinmolativo" se refiere a una fracción o residuo con la que se forma un enlace

estable entre dos grupos de un compuesto o conjugado, pero que se vuelve lábil al activarse (p. ej., un ataque nucleófilo), lo que da lugar a una división rápida de la fracción o residuo y a la separación de los dos grupos. La química de los grupos autoinmolativos se describe, por ejemplo, en Alouane, A. *et al.*, "Self-immolative spacers: kinetic aspects, structure-property relationships, and applications", *Angew*. *Chem. Int. Ed.*, 2015, 54, 7492-7509 and Kolakowski, R. V. *et al.*, The methylene alkoxy carbamate self-immolative unit: Utilization of the targeted delivery of alcohol-containing payloads with antibody-drug conjugates", *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2016, 55, 7948-7951.

2. Anticuerpos TF

2.1. Unión al TF

[00184] En el presente documento, se dan a conocer los anticuerpos aislados que se unen específicamente al TF. En algunos aspectos, el TF es hTF (SEQ ID n.º 809). En algunos aspectos, el TF es cTF (SEQ ID n.º 813). En algunos aspectos, el TF es mTF (SEQ ID n.º 817). En algunos aspectos, el TF es TF de conejo (SEQ ID n.º 832). En algunos aspectos, el TF es pTF (SEQ ID n.º 824). En algunas realizaciones, los anticuerpos que se dan a conocer en el presente documento se unen específicamente al hTF (SEQ ID n.º 809), al cTF (SEQ ID n.º 813), al mTF (SEQ ID n.º 817), al TF de conejo (SEQ ID n.º 832), y al pTF (SEQ ID n.º 824). En algunas realizaciones, los anticuerpos que se dan a conocer en el presente documento se unen específicamente al hTF (SEQ ID n.º 809), al cTF (SEQ ID n.º 813), al mTF (SEQ ID n.º 817) y al pTF (SEQ ID n.º 824). En algunas realizaciones, los anticuerpos que se dan a conocer en el presente documento se unen específicamente al hTF (SEQ ID n.º 809), al cTF (SEQ ID n.º 813) y al mTF (SEQ ID n.º 817). En algunas realizaciones, los anticuerpos que se dan a conocer en el presente documento se unen específicamente al hTF (SEQ ID n.º 809) y al cTF (SEQ ID n.º 813). En algunas realizaciones, los anticuerpos que se dan a conocer en el presente documento no se unen al mTF (SEQ ID n.º 817). En algunas realizaciones, los anticuerpos que se dan a conocer en el presente documento no se unen al pTF (SEQ ID

n.º 824). En algunas realizaciones, los anticuerpos que se dan a conocer en el presente documento no se unen al TF de conejo (SEQ ID n.º 832).

[00185] En varias realizaciones, los anticuerpos que se dan a conocer en el presente documento se unen específicamente al dominio extracelular del TF humano (SEQ ID n.º 810).

[00186] En algunas realizaciones, la unión entre un anticuerpo que se da a conocer en el presente documento y una variante del dominio extracelular del TF que comprende una mutación en el residuo de aminoácido 149 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810 es menor que el 50% de la unión entre el anticuerpo que se da a conocer en el presente documento y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, tal como se determina por el valor medio de la intensidad de fluorescencia del anticuerpo en relación con un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas. En algunas realizaciones, la mutación en el residuo de aminoácidos 149 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810 es K149N.

[00187] En algunas realizaciones, la unión entre un anticuerpo que se da a conocer en el presente documento y una variante del dominio extracelular del TF que comprende una mutación en el residuo de aminoácido 68 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810 es mayor que el 50% de la unión entre el anticuerpo que se da a conocer en el presente documento y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, tal como se determina por el valor medio de la intensidad de fluorescencia del anticuerpo en relación con un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas. En algunas realizaciones, la mutación en el residuo de aminoácidos 68 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810 es K68N.

[00188] En algunas realizaciones, la unión entre un anticuerpo que se da a conocer en el presente documento y una variante del dominio extracelular del TF que comprende mutaciones en los residuos de aminoácidos 171 y 197 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810 es menor que el 50% de la unión

entre el anticuerpo que se da a conocer en el presente documento y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, tal como se determina por el valor medio de la intensidad de fluorescencia del anticuerpo en relación con un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas. En algunas realizaciones, las mutaciones en los residuos de aminoácidos 171 y 197 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810 son N171H y T197K.

[00189] En algunas realizaciones, la unión entre un anticuerpo que se da a conocer en el presente documento y un dominio extracelular del TF humano con los residuos de aminoácidos 1-77 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, reemplazada por los residuos de aminoácidos 1-76 del dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 838, es mayor que el 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, tal como se determina por el valor medio de la intensidad de fluorescencia del anticuerpo en relación con un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas.

[00190] En algunas realizaciones, la unión entre un anticuerpo que se da a conocer en el presente documento y un dominio extracelular del TF humano con los residuos de aminoácidos 39-77 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, reemplazada por los residuos de aminoácidos 38-76 del dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 838, es mayor que el 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, tal como se determina por el valor medio de la intensidad de fluorescencia del anticuerpo en relación con un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas.

[00191] En algunas realizaciones, la unión entre un anticuerpo que se da a conocer en el presente documento y un dominio extracelular del TF humano con los residuos de aminoácidos 94-107 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, reemplazada por los residuos de aminoácidos 99-112 del dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 838,

es mayor que el 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, tal como se determina por el valor medio de la intensidad de fluorescencia del anticuerpo en relación con un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas.

[00192] En algunas realizaciones, la unión entre un anticuerpo que se da a conocer en el presente documento y un dominio extracelular del TF humano con los residuos de aminoácidos 146-158 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, reemplazada por los residuos de aminoácidos 151-163 del dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 838, es menor que el 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, tal como se determina por el valor medio de la intensidad de fluorescencia del anticuerpo en relación con un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas.

[00193] En algunas realizaciones, la unión entre un anticuerpo que se da a conocer en el presente documento y un dominio extracelular del TF humano con los residuos de aminoácidos 159-219 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, reemplazada por los residuos de aminoácidos 164-224 del dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 838, es menor que el 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, tal como se determina por el valor medio de la intensidad de fluorescencia del anticuerpo en relación con un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas.

[00194] En algunas realizaciones, la unión entre un anticuerpo que se da a conocer en el presente documento y un dominio extracelular del TF humano con los residuos de aminoácidos 159-189 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, reemplazada por los residuos de aminoácidos 164-194 del dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 838, es menor que el 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, tal como se determina

por el valor medio de la intensidad de fluorescencia del anticuerpo en relación con un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas.

[00195] En algunas realizaciones, la unión entre un anticuerpo que se da a conocer en el presente documento y un dominio extracelular del TF humano con los residuos de aminoácidos 159-174 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, reemplazada por los residuos de aminoácidos 164-179 del dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 838, es menor que el 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, tal como se determina por el valor medio de la intensidad de fluorescencia del anticuerpo en relación con un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas.

[00196] En algunas realizaciones, la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular humano con los residuos de aminoácidos 167-174 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 reemplazado por los residuos de aminoácidos del dominio TF extracelular de rata 172-179 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 838 es menos del 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810, como se determina por el valor medio de intensidad de fluorescencia del anticuerpo respecto de un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas.

[00197] En algunas realizaciones, la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular de rata con los residuos de aminoácidos 141-194 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 838 reemplazado por los residuos de aminoácidos del dominio TF extracelular humano 136-189 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 es mayor al 50% de la unión entre el anticuerpo provisto en el presente documento y el dominio de TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810, como se determina por el valor medio de intensidad de fluorescencia del anticuerpo respecto de un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas.

[00198] En algunas realizaciones, la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular variable que comprende una mutación en el residuo de aminoácidos 149 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 es menos del 50% de la unión entre el anticuerpo provisto en el presente documento y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810; la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular variable que comprende una mutación en el residuo de aminoácidos 68 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 es mayor al 50% de la unión entre el anticuerpo provisto en el presente documento y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810; la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular humano con los residuos de aminoácidos 1-77 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 reemplazado por los residuos de aminoácidos del dominio TF extracelular de rata 1-76 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 838 es mayor al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810; la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular humano con los residuos de aminoácidos 39-77 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 reemplazado por los residuos de aminoácidos del dominio TF extracelular de rata 38-76 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 838 es mayor al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810; la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular humano con residuos de aminoácidos 94-107 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 reemplazado por los residuos de aminoácidos del dominio TF extracelular de rata 99-112 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 838 es mayor al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810; la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular humano con los residuos de aminoácidos 146-158 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810

reemplazado por los residuos de aminoácidos del dominio TF extracelular de rata 151-163 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 838 es menos del 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810; y la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular de rata con los residuos de aminoácidos 141-194 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 838 reemplazado por los residuos de aminoácidos del dominio TF extracelular humano 136-189 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 es mayor al 50% de la unión entre el anticuerpo provisto en el presente documento y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810, como se determina por el valor medio de la intensidad de fluorescencia del anticuerpo respecto de un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas. En algunas realizaciones, la mutación en el residuo de aminoácidos 149 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 es K149N; y la mutación en el residuo de aminoácidos 68 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 es K68N.

[00199] En algunas realizaciones, la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular variable que comprende una mutación en el residuo de aminoácidos 149 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 es menos del 50% de la unión entre el anticuerpo provisto en el presente documento y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810; la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular variable que comprende una mutación en el residuo de aminoácidos 68 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 es mayor al 50% de la unión entre el anticuerpo provisto en el presente documento y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810; la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular variable que comprende mutaciones en los residuos de aminoácidos 171 y 197 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 es menos del 50% de la unión entre el anticuerpo provisto en el presente documento y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810; la unión entre un

anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular humano con los residuos de aminoácidos 1-77 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 reemplazado por los residuos de aminoácidos del dominio TF extracelular de rata 1-76 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 838 es mayor al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810; la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular humano con los residuos de aminoácidos 39-77 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 reemplazado por los residuos de aminoácidos del dominio TF extracelular de rata 38-76 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 838 es mayor al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810; la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular humano con residuos de aminoácidos 94-107 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 reemplazado por los residuos de aminoácidos del dominio TF extracelular de rata 99-112 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 838 es mayor al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810; la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular humano con los residuos de aminoácidos 146-158 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 reemplazado por los residuos de aminoácidos del dominio TF extracelular de rata 151-163 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 838 es menos del 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810; la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular humano con los residuos de aminoácidos 159-219 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 reemplazado por los residuos de aminoácidos del dominio TF extracelular de rata 164-224 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 838 es menos del 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810; la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular

humano con los residuos de aminoácidos 159-189 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 reemplazado por los residuos de aminoácidos del dominio TF extracelular de rata 164-194 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 838 es menos del 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810; la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular humano con los residuos de aminoácidos 159-174 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 reemplazado por los residuos de aminoácidos del dominio TF extracelular de rata 164-179 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 838 es menos del 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810; la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular humano con los residuos de aminoácidos 167-174 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 reemplazado por los residuos de aminoácidos del dominio TF extracelular de rata 172-179 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 838 es menos del 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810; y la unión entre un anticuerpo provisto en el presente documento y un dominio TF extracelular de rata con los residuos de aminoácidos 141-194 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 838 reemplazado por los residuos de aminoácidos del dominio TF extracelular humano 136-189 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 es mayor al 50% de la unión entre el anticuerpo provisto en el presente documento y el dominio TF extracelular de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810, como se determina por el valor medio de la intensidad de fluorescencia del anticuerpo respecto de un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas. En algunas realizaciones, la mutación en el residuo de aminoácidos 149 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 es K149N; la mutación en el residuo de aminoácidos 68 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 es K68N; y las mutaciones en los residuos de aminoácidos 171 y 197 de la secuencia mostrada en la SEQ ID n.° 810 son N171H y T197K.

[00200] En algunas realizaciones, los anticuerpos provistos en el presente documento son inertes para inhibir la generación de trombina humana, según se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA), en comparación con un anticuerpo de referencia M1593, donde el anticuerpo de referencia M1593 comprende una secuencia V_H de la SEQ ID n.° 821 y una secuencia V_L de la SEQ ID n.° 822.

[00201] En algunas realizaciones, los anticuerpos provistos en el presente documento no inhiben la generación de trombina humana, según se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En determinadas realizaciones, los anticuerpos provistos en el presente documento permiten la generación de trombina humana, según se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA).

[00202] En algunas realizaciones, los anticuerpos provistos en el presente documento se unen a TF humano en un sitio de unión de TF humano que es distinto a un sitio de unión de TF humano unido por FX humano. En ciertas realizaciones, los anticuerpos provistos en el presente documento no interfieren con la capacidad de TF:FVIIa para convertir FX en FXa.

[00203] En algunas realizaciones, los anticuerpos provistos en el presente documento se unen a TF humano en un sitio de unión de TF humano que es distinto a un sitio de unión de TF humano unido por FVIIa humano. En determinadas realizaciones, los anticuerpos provistos en el presente documento no compiten por unirse al TF humano con FVIIa humano.

[00204] En algunas realizaciones, los anticuerpos provistos en el presente documento se unen al dominio TF extracelular humano, se unen a TF humano en un sitio de unión de TF humano que es distinto a un sitio de unión de TF humano unido por FVIIa humano, se unen a TF humano en un sitio de unión de TF humano que es distinto a un sitio de unión de TF humano unido por FX humano, y permite la generación de trombina humana según se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA).

[00205] En algunas realizaciones, los anticuerpos provistos en el presente documento se unen al dominio extracelular del TF humano, no inhiben la generación de trombina humana según se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA), no interfieren con la capacidad de TF:FVIIa para convertir FX en FXa, y no compiten por unirse al TF humano con FVIIa humano.

[00206] En algunas realizaciones, los anticuerpos provistos en el presente documento se unen al dominio TF extracelular humano en un sitio de unión de TF humano que es distinto a un sitio de unión de TF humano unido por FVIIa humano, no inhiben la generación de trombina humana según se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA), permiten la generación de trombina humana según se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA), se unen al TF humano en un sitio de unión de TF humano que es distinto a un sitio de unión de TF humano unido por FX humano, no interfieren con la capacidad de TF:FVIIa para convertir FX en FXa, y no compiten por unirse al TF humano con FVIIa humano.

[00207] En algunas realizaciones, los anticuerpos provistos en el presente documento inhiben la señalización de TF que depende de FVIIa.

[00208] En algunas realizaciones, los anticuerpos provistos en el presente documento se unen al dominio TF extracelular humano en un sitio de unión de TF humano que es distinto a un sitio de unión de TF humano unido por FVIIa humano, no inhiben la generación de trombina humana según se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA), permiten la generación de trombina humana según se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA), se unen al TF humano en un sitio de unión de TF humano que es distinto a un sitio de unión de TF humano unido por FX humano, no interfieren con la capacidad de TF:FVIIa para convertir FX en FXa, no compiten por unirse al TF humano con FVIIa humano, y se unen a TF de macaco y ratón.

[00209] En algunas realizaciones, los anticuerpos provistos en el presente documento se unen al dominio TF extracelular humano en un sitio de unión de TF humano que es distinto a un sitio de unión de TF humano unido por FVIIa

humano, no inhiben la generación de trombina humana según se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA), permiten la generación de trombina humana según se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA), se unen al TF humano en un sitio de unión de TF humano que es distinto a un sitio de unión de TF humano unido por FX humano, no interfieren con la capacidad de TF:FVIIa para convertir FX en FXa, no compiten por unirse al TF humano con FVIIa humano, y se unen a TF de macaco, ratón y cerdo.

[00210] En algunas realizaciones, los anticuerpos provistos en el presente documento se unen al dominio TF extracelular humano, inhiben la señalización de TF que depende de FVIIa, y se unen a TF de macaco.

2.2. Secuencias de anticuerpos TF

2.2.1. Cadena pesada

[00211] En algunas realizaciones, un anticuerpo provisto en el presente documento comprende una secuencia de cadena pesada. Se proporcionan secuencias ilustrativas de cadena pesada en la Tabla 22. La secuencia de cadena pesada puede ser una secuencia de cadena pesada del clon del anticuerpo identificado como 25A. La secuencia de cadena pesada puede ser una secuencia de cadena pesada del clon del anticuerpo identificado como 25A3. La secuencia de cadena pesada puede ser una secuencia de cadena pesada del clon del anticuerpo identificado como 25A5. La secuencia de cadena pesada puede ser una secuencia de cadena pesada del clon del anticuerpo identificado como 25A5T. La secuencia de cadena pesada puede ser una secuencia de cadena pesada del clon del anticuerpo identificado como 25G. La secuencia de cadena pesada puede ser una secuencia de cadena pesada del clon del anticuerpo identificado como 25G1. La secuencia de cadena pesada puede ser una secuencia de cadena pesada del clon del anticuerpo identificado como 25G9.

2.2.2. Cadena ligera

En algunas realizaciones, un anticuerpo provisto en el presente documento comprende una secuencia de cadena ligera. Se proporcionan secuencias

ilustrativas de cadena ligera en la Tabla 22. La secuencia de cadena ligera puede ser una secuencia de cadena ligera del clon del anticuerpo identificado como 25A. La secuencia de cadena ligera puede ser una secuencia de cadena ligera del clon del anticuerpo identificado como 25A3. La secuencia de cadena ligera puede ser una secuencia de cadena ligera del clon del anticuerpo identificado como 25A5. La secuencia de cadena ligera puede ser una secuencia de cadena ligera del clon del anticuerpo identificado como 25A5T. La secuencia de cadena ligera puede ser una secuencia de cadena ligera del clon del anticuerpo identificado como 25G. La secuencia de cadena ligera puede ser una secuencia de cadena ligera del clon del anticuerpo identificado como 25G1. La secuencia de cadena ligera puede ser una secuencia de cadena ligera del clon del anticuerpo identificado como 25G9.

2.2.3. Dominios V_H

[00212] En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_H seleccionada de las SEQ ID n.°: 113, 151, 189, 836, 227, 265, 303, 763, 868 y 870. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_H de la SEQ ID n.° 113. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_H de la SEQ ID n.° 151. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_H de la SEQ ID n.° 189. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_H de la SEQ ID n.° 836. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_H de la SEQ ID n.° 227. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_H de la SEQ ID n.° 265. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_H de la SEQ ID n.° 303. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_H de la SEQ ID n.°: 763. En

algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_H de la SEQ ID n.°: 868.

[00213] En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_H que tiene aproximadamente una identidad del 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% o 99% con respecto a una secuencia V_H ilustrativa seleccionada de las SEQ ID n.°: 113, 151; 189; 836; 227; 265; 303; 763; 868 y 870. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_H seleccionada de las SEQ ID n.°: 113, 151, 189, 836, 227, 265, 303, 763, 868 y 870, con un total de hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 o 25 sustituciones de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos conservadoras. En algunas realizaciones, a los anticuerpos descritos en este párrafo se los denomina “variantes” en el presente documento. En algunas realizaciones, esas variantes se derivan de una secuencia proporcionada en el presente documento, por ejemplo, por maduración de la afinidad, mutagénesis dirigida al sitio, mutagénesis aleatoria, o cualquier otro método conocido en la técnica o descrito aquí. En algunas realizaciones, esas variantes no se derivan de una secuencia proporcionada en el presente documento y, por ejemplo, se pueden aislar *de novo* según los métodos de obtención de anticuerpos descritos aquí.

2.2.4. Dominios V_L

[00214] En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_L seleccionada de las SEQ ID n.°: 114, 152; 190; 837; 228; 266; 304; 764; 869 y 871. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_L de la SEQ ID n.° 114. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_L de la SEQ ID n.° 152. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_L de la SEQ ID n.° 190. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia

V_L de la SEQ ID n.° 837. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_L de la SEQ ID n.° 228. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_L de la SEQ ID n.° 266. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_L de la SEQ ID n.° 304. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_L de la SEQ ID n.°: 764. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_L de la SEQ ID n.°: 869. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_L de la SEQ ID n.°: 871.

[00215] En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_L que tiene aproximadamente una identidad del 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% o 99% con respecto a una secuencia VL ilustrativa seleccionada de las SEQ ID n.°: 114, 152; 190; 837; 228; 266; 304; 764; 869 y 871. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_L seleccionada de las SEQ ID n.°: 114, 152, 190, 837, 228, 266, 304, 764, 869 y 871, con un total de hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 o 25 sustituciones de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos conservadoras. En algunas realizaciones, a los anticuerpos descritos en este párrafo se los denomina “variantes” en el presente documento. En algunas realizaciones, esas variantes se derivan de una secuencia proporcionada en el presente documento, por ejemplo, por maduración de la afinidad, mutagénesis dirigida al sitio, mutagénesis aleatoria, o cualquier otro método conocido en la técnica o descrito aquí. En algunas realizaciones, esas variantes no se derivan de una secuencia proporcionada en el presente documento y, por ejemplo, se pueden aislar *de novo* según los métodos de obtención de anticuerpos descritos aquí.

2.2.5. Combinaciones de V_H-V_L

[00216] En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_H seleccionada de las SEQ ID n.°: 113, 151, 189, 836, 227, 265, 303, 763, 868 y 870, y una secuencia V_L seleccionada de las SEQ ID n.°: 114, 152; 190; 837; 228; 266; 304; 764; 869 y 871.

[00217] En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia VH de la SEQ ID n.° 113 y una secuencia VL de la SEQ ID n.° 114. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia VH de la SEQ ID n.° 151 y una secuencia VL de la SEQ ID n.° 152. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia VH de la SEQ ID n.° 189 y una secuencia VL de la SEQ ID n.° 190. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia VH de la SEQ ID n.° 836 y una secuencia VL de la SEQ ID n.° 837. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia VH de la SEQ ID n.° 227 y una secuencia VL de la SEQ ID n.° 228. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia VH de la SEQ ID n.° 265 y una secuencia VL de la SEQ ID n.° 266. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia VH de la SEQ ID n.° 303 y una secuencia VL de la SEQ ID n.° 304. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia VH de la SEQ ID n.° 763 y una secuencia VL de la SEQ ID n.° 764. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia VH de la SEQ ID n.° 868 y una secuencia VL de la SEQ ID n.° 869. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia VH de la SEQ ID n.° 870 y una secuencia VL de la SEQ ID n.° 871.

[00218] En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_H que tiene aproximadamente una identidad del 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% o 99% con respecto a una

secuencia V_H ilustrativa seleccionada de las SEQ ID n.°: 113, 151, 189, 836, 227, 265, 303, 763, 868 y 870, y una secuencia V_L que tiene una identidad de aproximadamente 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% o 99% con respecto a una secuencia VL ilustrativa seleccionada de las SEQ ID n.°: 114, 152; 190; 837; 228; 266; 304; 764; 869 y 871. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden una secuencia V_H seleccionada de las SEQ ID n.°: 113, 151, 189, 836, 227, 265, 303, 763, 868 y 870, con un total de hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 o 25 sustituciones de aminoácidos, y una secuencia V_L seleccionada de las SEQ ID n.°: 114, 152, 190, 837, 228, 266, 304, 764, 869 y 871, con un total de hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 o 25 sustituciones de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos conservadoras. En algunas realizaciones, a los anticuerpos descritos en este párrafo se los denomina “variantes” en el presente documento. En algunas realizaciones, esas variantes se derivan de una secuencia proporcionada en el presente documento, por ejemplo, por maduración de la afinidad, mutagénesis dirigida al sitio, mutagénesis aleatoria, o cualquier otro método conocido en la técnica o descrito aquí. En algunas realizaciones, esas variantes no se derivan de una secuencia proporcionada en el presente documento y, por ejemplo, se pueden aislar *de novo* según los métodos de obtención de anticuerpos descritos aquí.

2.2.6. CDR

[00219] En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden de una a tres CDR de un dominio V_H seleccionado de las SEQ ID n.°: 113, 151; 189; 836; 227; 265; 303; 763; 868 y 870. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden dos o tres CDR de un dominio V_H seleccionado de las SEQ ID n.°: 113, 151; 189; 836; 227; 265; 303; 763; 868 y 870. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden tres CDR de un dominio V_H seleccionado de las SEQ ID n.°: 113, 151; 189; 836; 227; 265; 303; 763; 868 y

870. En algunos aspectos, las CDR son ilustrativas. En algunos aspectos, las CDR son de Kabat. En algunos aspectos, las CDR son de Chothia. En algunos aspectos, las CDR son de AbM. En algunos aspectos, las CDR son de contacto. En algunos aspectos, las CDR son del Sistema de Información Internacional de Inmunogenética (IMGT).

[00220] En algunas realizaciones, las CDR tienen aproximadamente una identidad del 50%, 75%, 80%, 85%, 90% o 95% con las CDR-H1, CDR-H2 o CDR-H3 de las SEQ ID n.°: 113, 151; 189; 836; 227; 265; 303; 763; 868 y 870. En algunas realizaciones, la CDR-H1 es una CDR-H1 que pertenece a un dominio V_H seleccionado de las SEQ ID n.°: 113, 151, 189, 836, 227, 265, 303, 763, 868 y 870, con un total de hasta 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos. En algunas realizaciones, la CDR-H2 es una CDR-H2 que pertenece a un dominio V_H seleccionado de las SEQ ID n.°: 113, 151, 189, 836, 227, 265, 303, 763, 868 y 870, con un total de hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 sustituciones de aminoácidos. En algunas realizaciones, la CDR-H3 es una CDR-H3 que pertenece a un dominio V_H seleccionado de las SEQ ID n.°: 113, 151, 189, 836, 227, 265, 303, 763, 868 y 870, con un total de hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 sustituciones de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos conservadoras. En algunas realizaciones, a los anticuerpos descritos en este párrafo se los denomina “variantes” en el presente documento. En algunas realizaciones, esas variantes se derivan de una secuencia proporcionada en el presente documento, por ejemplo, por maduración de la afinidad, mutagénesis dirigida al sitio, mutagénesis aleatoria, o cualquier otro método conocido en la técnica o descrito aquí. En algunas realizaciones, esas variantes no se derivan de una secuencia proporcionada en el presente documento y, por ejemplo, se pueden aislar *de novo* según los métodos de obtención de anticuerpos descritos aquí.

[00221] En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden de una a tres CDR de un dominio V_L seleccionado de las SEQ ID n.°: 114, 152; 190; 837; 228; 266; 304; 764; 869 y 871. En algunas

realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden dos o tres CDR de un dominio V_L seleccionado de las SEQ ID n.°: 114, 152; 190; 837; 228; 266; 304; 764; 869 y 871. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden tres CDR de un dominio V_L seleccionado de las SEQ ID n.°: 114, 152; 190; 837; 228; 266; 304; 764; 869 y 871. En algunos aspectos, las CDR son ilustrativas. En algunos aspectos, las CDR son de Kabat. En algunos aspectos, las CDR son de Chothia. En algunos aspectos, las CDR son de AbM. En algunos aspectos, las CDR son de contacto. En algunos aspectos, las CDR son del Sistema de Información Internacional de Inmunogenética (IMGT).

[00222] En algunas realizaciones, las CDR tienen aproximadamente una identidad del 50%, 75%, 80%, 85%, 90% o 95% con las CDR-L1, CDR-L2 o CDR-L3 de las SEQ ID n.°: 114, 152; 190; 837; 228; 266; 304; 764; 869 y 871. En algunas realizaciones, la CDR-L1 es una CDR-L1 que pertenece a un dominio V_L seleccionado de las SEQ ID n.°: 114, 152, 190, 837, 228, 266, 304, 764, 869 y 871, con un total de hasta 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos. En algunas realizaciones, la CDR-L2 es una CDR-L2 que pertenece a un dominio V_L seleccionado de las SEQ ID n.°: 114, 152, 190, 837, 228, 266, 304, 764, 869 y 871, con un total de hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 sustituciones de aminoácidos. En algunas realizaciones, la CDR-L3 es una CDR-L3 que pertenece a un dominio V_L seleccionado de las SEQ ID n.°: 114, 152, 190, 837, 228, 266, 304, 764, 869 y 871, con un total de hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 sustituciones de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos conservadoras. En algunas realizaciones, a los anticuerpos descritos en este párrafo se los denomina “variantes” en el presente documento. En algunas realizaciones, esas variantes se derivan de una secuencia proporcionada en el presente documento, por ejemplo, por maduración de la afinidad, mutagénesis dirigida al sitio, mutagénesis aleatoria, o cualquier otro método conocido en la técnica o descrito aquí. En algunas realizaciones, esas variantes no se derivan de una secuencia proporcionada en el presente

documento y, por ejemplo, se pueden aislar *de novo* según los métodos de obtención de anticuerpos descritos aquí.

[00223] En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden de una a tres CDR de un dominio V_H seleccionado de las SEQ ID n.°: 113, 151, 189, 836, 227, 265, 303, 763, 868 y 870, y de una a tres CDR de un dominio V_L seleccionado de las SEQ ID n.°: 114, 152; 190; 837; 228; 266; 304; 764; 869 y 871. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden dos o tres CDR de un dominio V_H seleccionado de las SEQ ID n.°: 113, 151, 189, 836, 227, 265, 303, 763, 868 y 870, y dos o tres CDR de un dominio V_L seleccionado de las SEQ ID n.°: 114, 152; 190; 837; 228; 266; 304; 764; 869 y 871. En algunas realizaciones, los anticuerpos descritos en el presente documento comprenden tres CDR de un dominio V_H seleccionado de las SEQ ID n.°: 113, 151, 189, 836, 227, 265, 303, 763, 868 y 870, y tres CDR de un dominio V_L seleccionado de las SEQ ID n.°: 114, 152; 190; 837; 228; 266; 304; 764; 869 y 871. En algunos aspectos, las CDR son ilustrativas. En algunos aspectos, las CDR son de Kabat. En algunos aspectos, las CDR son de Chothia. En algunos aspectos, las CDR son de AbM. En algunos aspectos, las CDR son de contacto. En algunos aspectos, las CDR son del Sistema de Información Internacional de Inmunogenética (IMGT).

[00224] En algunas realizaciones, las CDR tienen aproximadamente una identidad del 50%, 75%, 80%, 85%, 90% o 95% con las CDR-H1, CDR-H2 o CDR-H3 de las SEQ ID n.°: 113, 151, 189, 836, 227, 265, 303, 763, 868 y 870, y al menos aproximadamente 50%, 75%, 80%, 85%, 90% o 95% de identidad con una CDR-L1, CDR -L2 o CDR-L3 de las SEQ ID n.°: 114, 152; 190; 837; 228; 266; 304; 764; 869 y 871. En algunas realizaciones, la CDR-H1 es una CDR-H1 que pertenece a un dominio V_H seleccionado de las SEQ ID n.°: 113, 151, 189, 836, 227, 265, 303, 763, 868 y 870, con hasta 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos; la CDR-H2 es una CDR-H2 de un dominio V_H seleccionado de las SEQ ID n.°: 113, 151, 189, 836, 227, 265, 303, 763, 868 y 870, con un total de hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 sustituciones de aminoácidos; la CDR-H3 es una CDR-

H3 de un dominio V_H seleccionado de las SEQ ID n.°: 113, 151, 189, 836, 227, 265, 303, 763, 868 y 870, con un total de hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 sustituciones de aminoácidos; la CDR-L1 es una CDR-L1 de un dominio V_L seleccionado de las SEQ ID n.°: 114, 152, 190, 837, 228, 266, 304, 764, 869 y 871, con hasta 1, 2, 3, 4, 5 o 6 sustituciones de aminoácidos; la CDR-L2 es una CDR-L2 de un dominio V_L de las SEQ ID n.°: 114, 152, 190, 837, 228, 266, 304, 764, 869 y 871, con hasta 1, 2, 3 o 4 sustituciones de aminoácidos; y la CDR-L3 es una CDR-L3 de un dominio V_L seleccionado de las SEQ ID n.°: 114, 152, 190, 837, 228, 266, 304, 764, 869 y 871, con un total de hasta 1, 2, 3, 4 o 5 sustituciones de aminoácidos. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos conservadoras. En algunas realizaciones, a los anticuerpos descritos en este párrafo se los denomina “variantes” en el presente documento. En algunas realizaciones, esas variantes se derivan de una secuencia proporcionada en el presente documento, por ejemplo, por maduración de la afinidad, mutagénesis dirigida al sitio, mutagénesis aleatoria, o cualquier otro método conocido en la técnica o descrito aquí. En algunas realizaciones, esas variantes no se derivan de una secuencia proporcionada en el presente documento y, por ejemplo, se pueden aislar *de novo* según los métodos de obtención de anticuerpos descritos aquí.

CDR de 25A

[00225] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR de cadena pesada del clon del anticuerpo 25A. Las secuencias de CDR del anticuerpo 25A determinadas por los sistemas de numeración Exemplary, Kabat, Chothia, AbM, Contact e IMGT se muestran en la Tabla 7. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H3 del clon del anticuerpo 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H2 del clon del anticuerpo 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H1 que es 50%, 75%, 80%,

85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H1 del clon del anticuerpo 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena pesada que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las dos CDR de cadena pesada correspondientes del clon del anticuerpo 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las tres CDR de cadena pesada del clon del anticuerpo 25A.

[00226] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una CDR de cadena ligera del clon del anticuerpo 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L3 del clon del anticuerpo 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L2 del clon del anticuerpo 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L1 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L1 del clon del anticuerpo 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena ligera que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las dos CDR de cadena ligera correspondientes del clon del anticuerpo 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDR de cadena ligera que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las tres CDR de cadena ligera del clon del anticuerpo 25A.

[00227] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CHR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H3 del clon del anticuerpo 25A y la secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia CDR-L3 del clon del anticuerpo 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende seis secuencias de CDR que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las seis CDR correspondientes del clon del anticuerpo 25A.

CDR de 25A3

[00228] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR de cadena pesada del clon del anticuerpo 25A3. Las secuencias de CDR del anticuerpo 25A3 determinadas por los sistemas de numeración Exemplary, Kabat, Chothia, AbM, Contact e IMGT se muestran en la Tabla 8. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H3 del clon del anticuerpo 25A3. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H2 del clon del anticuerpo 25A3. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H1 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H1 del clon del anticuerpo 25A3. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena pesada que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las dos CDR de cadena pesada correspondientes del clon del anticuerpo 25A3. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las tres CDR de cadena pesada del clon del anticuerpo 25A3.

[00229] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una CDR de cadena ligera del clon del anticuerpo 25A3. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L3 del clon del anticuerpo 25A3. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L2 del clon del anticuerpo 25A3. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L1 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L1 del clon del anticuerpo 25A3. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena ligera que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las dos CDR de cadena ligera correspondientes del clon del anticuerpo 25A3. En algunas realizaciones, el

anticuerpo comprende tres CDR de cadena ligera que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las tres CDR de cadena ligera del clon del anticuerpo 25A3.

[00230] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CHR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H3 del clon del anticuerpo 25A3 y la secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia CDR-L3 del clon del anticuerpo 25A3. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende seis secuencias de CDR que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las seis CDR correspondientes del clon del anticuerpo 25A3.

CDR de 25A5

[00231] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR de cadena pesada del clon del anticuerpo 25A5. Las secuencias de CDR del anticuerpo 25A5 determinadas por los sistemas de numeración Exemplary, Kabat, Chothia, AbM, Contact e IMGT se muestran en la Tabla 9. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H3 del clon del anticuerpo 25A5. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H2 del clon del anticuerpo 25A5. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H1 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H1 del clon del anticuerpo 25A5. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena pesada que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las dos CDR de cadena pesada correspondientes del clon del anticuerpo 25A5. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las tres CDR de cadena pesada del clon del anticuerpo 25A5.

[00232] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una CDR de cadena ligera del clon del anticuerpo 25A5. En algunas realizaciones, el anticuerpo

comprende una secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L3 del clon del anticuerpo 25A5. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L2 del clon del anticuerpo 25A5. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L1 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L1 del clon del anticuerpo 25A5. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena ligera que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las dos CDR de cadena ligera correspondientes del clon del anticuerpo 25A5. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDR de cadena ligera que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las tres CDR de cadena ligera del clon del anticuerpo 25A5.

[00233] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CHR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H3 del clon del anticuerpo 25A5 y la secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia CDR-L3 del clon del anticuerpo 25A5. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende seis secuencias de CDR que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las seis CDR correspondientes del clon del anticuerpo 25A5.

CDR de 25A5-T

[00234] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR de cadena pesada del clon del anticuerpo 25A5-T. Las secuencias de CDR del anticuerpo 25A5-T determinadas por los sistemas de numeración Exemplary, Kabat, Chothia, AbM, Contact e IMGT se muestran en la Tabla 10. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia CDR-H3 del clon del anticuerpo 25A5-T. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H2 del clon del anticuerpo 25A5-T. En algunas

realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H1 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H1 del clon del anticuerpo 25A5-T. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena pesada que son idénticas en un 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% a las dos CDR de cadena pesada correspondientes del clon del anticuerpo 25A5-T. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada que son idénticas en un 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% a las tres CDR de cadena pesada del clon del anticuerpo 25A5-T.

[00235] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una CDR de cadena ligera del clon del anticuerpo 25A5-T. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia CDR-L3 del clon del anticuerpo 25A5-T. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L2 del clon del anticuerpo 25A5-T. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L1 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L1 del clon del anticuerpo 25A5-T. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena ligera que son idénticas en un 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% a las dos CDR de cadena ligera correspondientes del clon del anticuerpo 25A5-T. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDR de cadena ligera que son idénticas en un 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% a las tres CDR de cadena ligera del clon del anticuerpo 25A5-T.

[00236] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CHR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H3 del clon del anticuerpo 25A5-T y la secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia CDR-L3 del clon del anticuerpo 25A5-T. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende seis secuencias de CDR que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las seis CDR correspondientes del clon del anticuerpo 25A5-T.

CDR de 25G

[00237] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR de cadena pesada del clon del anticuerpo 25G. Las secuencias de CDR del anticuerpo 25G determinadas por los sistemas de numeración Exemplary, Kabat, Chothia, AbM, Contact e IMGT se muestran en la Tabla 11. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H3 del clon del anticuerpo 25G. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H2 del clon del anticuerpo 25G. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H1 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H1 del clon del anticuerpo 25G. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena pesada que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las dos CDR de cadena pesada correspondientes del clon del anticuerpo 25G. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las tres CDR de cadena pesada del clon del anticuerpo 25G.

[00238] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una CDR de cadena ligera del clon del anticuerpo 25G. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L3 del clon del anticuerpo 25G. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L2 del clon del anticuerpo 25G. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L1 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L1 del clon del anticuerpo 25G. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena ligera que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las dos CDR de cadena ligera correspondientes del clon del anticuerpo 25G. En algunas realizaciones, el

anticuerpo comprende tres CDR de cadena ligera que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las tres CDR de cadena ligera del clon del anticuerpo 25G.

[00239] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CHR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H3 del clon del anticuerpo 25G y la secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia CDR-L3 del clon del anticuerpo 25G. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende seis secuencias de CDR que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las seis CDR correspondientes del clon del anticuerpo 25G.

CDR de 25G1

[00240] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR de cadena pesada del clon del anticuerpo 25G1. Las secuencias de CDR del anticuerpo 25G1 determinadas por los sistemas de numeración Exemplary, Kabat, Chothia, AbM, Contact e IMGT se muestran en la Tabla 12. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H3 del clon del anticuerpo 25G1. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H2 del clon del anticuerpo 25G1. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H1 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H1 del clon del anticuerpo 25G1. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena pesada que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las dos CDR de cadena pesada correspondientes del clon del anticuerpo 25G1. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las tres CDR de cadena pesada del clon del anticuerpo 25G1.

[00241] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una CDR de cadena ligera del clon del anticuerpo 25G1. En algunas realizaciones, el anticuerpo

comprende una secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L3 del clon del anticuerpo 25G1. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L2 del clon del anticuerpo 25G1. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L1 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L1 del clon del anticuerpo 25G1. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena ligera que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las dos CDR de cadena ligera correspondientes del clon del anticuerpo 25G1. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDR de cadena ligera que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las tres CDR de cadena ligera del clon del anticuerpo 25G1.

[00242] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CHR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H3 del clon del anticuerpo 25G1 y la secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia CDR-L3 del clon del anticuerpo 25G1. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende seis secuencias de CDR que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las seis CDR correspondientes del clon del anticuerpo 25G1.

CDR de 25G9

[00243] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR de cadena pesada del clon del anticuerpo 25G9. Las secuencias de CDR del anticuerpo 25G9 determinadas por los sistemas de numeración Exemplary, Kabat, Chothia, AbM, Contact e IMGT se muestran en la Tabla 13. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H3 del clon del anticuerpo 25G9. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H2 del clon del anticuerpo 25G9. En algunas

realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H1 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H1 del clon del anticuerpo 25G9. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena pesada que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las dos CDR de cadena pesada correspondientes del clon del anticuerpo 25G9. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las tres CDR de cadena pesada del clon del anticuerpo 25G9.

[00244] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una CDR de cadena ligera del clon del anticuerpo 25G9. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L3 del clon del anticuerpo 25G9. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L2 del clon del anticuerpo 25G9. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L1 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L1 del clon del anticuerpo 25G9. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena ligera que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las dos CDR de cadena ligera correspondientes del clon del anticuerpo 25G9. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDR de cadena ligera que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las tres CDR de cadena ligera del clon del anticuerpo 25G9.

[00245] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CHR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H3 del clon del anticuerpo 25G9 y la secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia CDR-L3 del clon del anticuerpo 25G9. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende seis secuencias de CDR que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las seis CDR correspondientes del clon del anticuerpo 25G9.

CDR de consenso de 25

[00246] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR de consenso de cadena pesada del grupo de anticuerpos identificado como el Grupo 25. Las secuencias de CDR de consenso del Grupo 25 de anticuerpos determinadas por los sistemas de numeración de Kabat y Chothia se muestran en la Tabla 14. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H3 de consenso del grupo de anticuerpos identificado como el Grupo 25. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H2 de consenso del grupo de anticuerpos identificado como el Grupo 25. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H1 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H1 de consenso del grupo de anticuerpos identificado como el Grupo 25. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena pesada que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las dos CDR de cadena pesada de consenso correspondientes del grupo de anticuerpos identificado como el Grupo 25. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las tres CDR de cadena pesada de consenso del grupo de anticuerpos identificado como el Grupo 25.

[00247] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una CDR de consenso de cadena ligera del grupo de anticuerpos identificado como el Grupo 25. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L3 de consenso del grupo de anticuerpos identificado como el Grupo 25. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L2 de consenso del grupo de anticuerpos identificado como el Grupo 25. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L1 que

es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L1 de consenso del grupo de anticuerpos identificado como el Grupo 25. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena ligera que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las dos CDR de cadena ligera de consenso correspondientes del grupo de anticuerpos identificado como el Grupo 25. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDR de cadena ligera que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las tres CDR de cadena ligera de consenso correspondientes del grupo de anticuerpos identificado como el Grupo 25.

[00248] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CHR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H3 de consenso del grupo de anticuerpos identificado como el Grupo 25 y la secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L3 de consenso del grupo de anticuerpos identificado como el Grupo 25 En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende seis secuencias de CDR que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las seis CDR de consenso correspondientes del grupo de anticuerpos identificado como el Grupo 25.

CDR de consenso de 25A

[00249] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR de cadena pesada de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25A. Las secuencias CDR de consenso para el linaje del grupo de anticuerpos 25A, según se determina mediante los sistemas de numeración de Kabat y Chothia, se muestran en la Tabla 21. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H3 de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H2 de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H1

que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H1 de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena pesada que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las dos CDR de cadena pesada de consenso correspondientes del linaje del grupo de anticuerpos 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las tres CDR de cadena pesada de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25A.

[00250] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una CDR de cadena ligera del linaje del grupo de anticuerpos 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L3 de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L2 de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L1 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L1 de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena ligera que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las dos CDR de cadena ligera de consenso correspondientes del linaje del grupo de anticuerpos 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDR de cadena ligera que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las tres CDR de cadena ligera de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25A.

[00251] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CHR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H3 de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25A y la secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia CDR-L3 de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25A. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende seis secuencias de CDR que

son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las seis CDR de consenso correspondientes del linaje del grupo de anticuerpos 25A.

CDR de consenso de 25G

[00252] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR de cadena pesada de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25G. Las secuencias CDR de consenso para el linaje del grupo de anticuerpos 25G, según se determina mediante los sistemas de numeración de Kabat y Chothia, se muestran en la Tabla 21. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H3 de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25G. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H2 de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25G. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-H1 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H1 de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25G. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena pesada que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las dos CDR de cadena pesada de consenso correspondientes del linaje del grupo de anticuerpos 25G. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDR de cadena pesada que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las tres CDR de cadena pesada de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25G.

[00253] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una CDR de cadena ligera del linaje del grupo de anticuerpos 25G. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L3 de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25G. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CDR-L2 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L2 de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25G. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una

secuencia de CDR-L1 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-L1 de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25G. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende dos CDR de cadena ligera que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las dos CDR de cadena ligera de consenso correspondientes del linaje del grupo de anticuerpos 25G. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende tres CDR de cadena ligera que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las tres CDR de cadena ligera de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25G.

[00254] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una secuencia de CHR-H3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia de CDR-H3 de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25G y la secuencia de CDR-L3 que es 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idéntica a la secuencia CDR-L3 de consenso del linaje del grupo de anticuerpos 25G. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende seis secuencias de CDR que son 50%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100% idénticas a las seis CDR de consenso correspondientes del linaje del grupo de anticuerpos 25G.

CDR de variantes

[00255] En algunas realizaciones de cualquiera de los anticuerpos provistos en el presente documento, las CDR de anticuerpos pueden comprender hasta 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 sustituciones de aminoácidos en cualquiera de las secuencias de CDR descritas en el presente documento. En algunos aspectos, las sustituciones de aminoácidos son sustituciones de aminoácidos conservadoras. En algunas realizaciones, a los anticuerpos descritos en este párrafo se los denomina “variantes” en el presente documento. En algunas realizaciones, esas variantes se derivan de una secuencia proporcionada en el presente documento, por ejemplo, por maduración de la afinidad, mutagénesis dirigida al sitio, mutagénesis aleatoria, o cualquier otro método conocido en la técnica o descrito aquí. En algunas realizaciones, esas variantes no se derivan de una secuencia proporcionada en el presente documento y, por ejemplo, se pueden aislar *de novo* según los métodos de obtención de anticuerpos descritos aquí.

2.2.7. Propiedades funcionales de variantes de anticuerpos

[00256] Conforme se describe arriba, y en otras partes de esta divulgación, en el presente documento, se proporcionan variantes de anticuerpos definidas en base al porcentaje de identidad respecto de una secuencia de anticuerpos ilustrativa provista en el presente documento, o la sustitución de residuos de aminoácidos en comparación con una secuencia de anticuerpos ilustrativa provista en el presente documento.

[00257] En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo provisto en el presente documento tiene especificidad para hTF. En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo provisto en el presente documento tiene especificidad para cTF. En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo provisto en el presente documento tiene especificidad para mTF. En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo provisto en el presente documento tiene especificidad para hTF y cTF. En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo provisto en el presente documento tiene especificidad para hTF y mTF. En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo provisto en el presente documento tiene especificidad para cTF y mTF. En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo provisto en el presente documento tiene especificidad para hTF, cTF y mTF.

[00258] En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo que se deriva de una secuencia ilustrativa de anticuerpos provista en el presente documento retiene afinidad, según se mide por K_D, para hTF que se encuentra dentro de aproximadamente 1,5 veces, aproximadamente 2 veces, aproximadamente 3 veces, aproximadamente 4 veces, aproximadamente 5 veces, aproximadamente 6 veces, aproximadamente 7 veces, aproximadamente 8 veces, aproximadamente 9 veces o aproximadamente 10 veces la afinidad de dicho anticuerpo ilustrativo. En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo que se deriva de una secuencia ilustrativa de anticuerpos provista en el presente documento retiene afinidad, según se mide por K_D, para cTF que se encuentra dentro de aproximadamente 1,5 veces, aproximadamente 2 veces,

aproximadamente 3 veces, aproximadamente 4 veces, aproximadamente 5 veces, aproximadamente 6 veces, aproximadamente 7 veces, aproximadamente 8 veces, aproximadamente 9 veces o aproximadamente 10 veces la afinidad de dicho anticuerpo ilustrativo. En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo que se deriva de una secuencia ilustrativa de anticuerpos provista en el presente documento retiene afinidad, según se mide por K_D, para mTF que se encuentra dentro de aproximadamente 1,5 veces, aproximadamente 2 veces, aproximadamente 3 veces, aproximadamente 4 veces, aproximadamente 5 veces, aproximadamente 6 veces, aproximadamente 7 veces, aproximadamente 8 veces, aproximadamente 9 veces o aproximadamente 10 veces la afinidad de dicho anticuerpo ilustrativo. En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo que se deriva de una secuencia ilustrativa de anticuerpos provista en el presente documento retiene afinidad, según se mide por K_D, para hTF y cTF que se encuentran dentro de aproximadamente 1,5 veces, aproximadamente 2 veces, aproximadamente 3 veces, aproximadamente 4 veces, aproximadamente 5 veces, aproximadamente 6 veces, aproximadamente 7 veces, aproximadamente 8 veces, aproximadamente 9 veces o aproximadamente 10 veces la afinidad de dicho anticuerpo ilustrativo. En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo que se deriva de una secuencia ilustrativa de anticuerpos provista en el presente documento retiene afinidad, según se mide por K_D, para hTF y mTF que se encuentran dentro de aproximadamente 1,5 veces, aproximadamente 2 veces, aproximadamente 3 veces, aproximadamente 4 veces, aproximadamente 5 veces, aproximadamente 6 veces, aproximadamente 7 veces, aproximadamente 8 veces, aproximadamente 9 veces o aproximadamente 10 veces la afinidad de dicho anticuerpo ilustrativo. En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo que se deriva de una secuencia ilustrativa de anticuerpos provista en el presente documento retiene afinidad, según se mide por K_D, para cTF y mTF que se encuentran dentro de aproximadamente 1,5 veces, aproximadamente 2 veces, aproximadamente 3 veces, aproximadamente 4 veces, aproximadamente 5 veces, aproximadamente

6 veces, aproximadamente 7 veces, aproximadamente 8 veces, aproximadamente 9 veces o aproximadamente 10 veces la afinidad de dicho anticuerpo ilustrativo. En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo que se deriva de una secuencia ilustrativa de anticuerpos provista en el presente documento retiene afinidad, según se mide por K_D, para hTF, cTF y mTF que se encuentran dentro de aproximadamente 1,5 veces, aproximadamente 2 veces, aproximadamente 3 veces, aproximadamente 4 veces, aproximadamente 5 veces, aproximadamente 6 veces, aproximadamente 7 veces, aproximadamente 8 veces, aproximadamente 9 veces o aproximadamente 10 veces la afinidad de dicho anticuerpo ilustrativo.

[00259] En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo provisto en el presente documento conserva la capacidad de inhibir la señalización de TF, según se mide a través de uno o más ensayos o efectos biológicos descritos en el presente documento. En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo provisto en el presente documento conserva la función normal de TF en los procesos de coagulación sanguínea.

[00260] En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo provisto en el presente documento compite por unirse a TF con un anticuerpo seleccionado de 25A, 25A3, 25A5, 25A5-T, 25G, 25G1 y 25G9, cada uno como se indica en la **Tabla 5** de esta divulgación.

[00261] En determinadas realizaciones, una variante de un anticuerpo provisto en el presente documento permite la generación de trombina humana, según se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo provisto en el presente documento no inhibe la generación de trombina humana, según se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA).

[00262] En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo proporcionado en el presente documento une TF humano en un sitio de unión de TF humano que se distingue de un sitio de unión de TF humano unido por FX humano. En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo proporcionado en el

presente documento no interfiere con la capacidad de TF:FVIIa para convertir FX en FXa.

[00263] En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo proporcionado en el presente documento une TF humano en un sitio de unión de TF humano que se distingue de un sitio de unión de TF humano unido por FVIIa humano. En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo proporcionado en el presente documento no compite por unirse a TF humano con FVIIa humano.

[00264] En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo proporcionado en el presente documento inhibe la señalización de TF dependiente de FVIIa.

[00265] En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo proporcionado en el presente documento une TF de ratón (SEQ ID n.º:817). En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo proporcionado en el presente documento une TF de ratón con una afinidad más baja (según lo indica una K_D mayor) que la afinidad del anticuerpo para TF humano. En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo proporcionado en el presente documento no une TF de ratón.

[00266] En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo proporcionado en el presente documento une TF de cerdo (SEQ ID n.°:824). En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo proporcionado en el presente documento une TF de cerdo con una afinidad más baja (según lo indica una K_D mayor) que la del anticuerpo para TF humano. En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo proporcionado en el presente documento no une TF de cerdo.

[00267] En algunas realizaciones, una variante de un anticuerpo proporcionado en el presente documento une el mismo epítopo de TF como tal anticuerpo.

2.2.8. Otras propiedades funcionales de los anticuerpos

[00268] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene una o más de las características que se mencionan en la siguiente lista con los identificadores (a)-(dd): (a) une TF humano en un sitio de unión de TF humano que se distingue de un sitio de unión de TF humano unido

por FVIIa humano; (b) no inhibe la generación de trombina humana según lo que determina el ensayo de generación de trombina (TGA); (c) no disminuye el pico de trombina en una curva de generación de trombina (Pico IIa) en comparación con un control de isotipo; (d) no aumenta el tiempo desde el inicio del ensayo hasta el pico de trombina en una curva de generación de trombina (Picott) en comparación con un control de isotipo; (e) no disminuye el potencial endógeno de trombina (ETP), según lo que determina el área debajo de una curva de generación de trombina en comparación con un control de isotipo; (f) permite la generación de trombina humana, según lo que determina el ensayo de generación de trombina (TGA); (g) mantiene el pico de trombina en una curva de generación de trombina (Pico IIa) en comparación con un control de isotipo; (h) mantiene el tiempo desde el inicio del ensayo hasta el pico de trombina en una curva de generación de trombina (Picott) en comparación con un control de isotipo; (i) preserva el potencial endógeno de trombina (ETP), según lo que determina el área debajo de una curva de generación de trombina en comparación con un control de isotipo; (j) une TF humano en un sitio de unión de TF humano que se distingue de un sitio de unión de TF humano unido por FX humano; (k) no interfiere en la capacidad de TF: FVIIa para convertir FX en FXa; (l) no compite por unirse a TF humano con FVIIa humano; (m) inhibe la señalización de TF dependiente de FVIIa; (n) se une a TF de mono cangrejero; (o) se une a TF de ratón; (p) se une a TF de conejo; (q) se une a TF de cerdo; (s) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF que comprende una mutación en el residuo de aminoácidos 149 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (t) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF que comprende una mutación en el residuo de aminoácidos 68 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 es superior al 50% de

la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (u) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF que comprende mutaciones en los residuos de aminoácidos 171 y 197 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (v) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF con residuos de aminoácidos 1-77 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 1-76 del dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es superior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determina el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (w) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF con residuos de aminoácidos 39-77 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 38-76 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es superior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (x) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF con residuos de aminoácidos 94-107 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 99-112 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es superior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio

extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (y) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF con residuos de aminoácidos 146-158 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 151-163 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838, es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (z) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos 159-219 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 164-224 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838, es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (aa) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos 159-189 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 164-194 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838, es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (bb) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos 159-174 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 164-179 de dominio extracelular de TF de ratas de la secuencia que

se muestra en la SEQ ID n.º:838, es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (cc) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos 167-174 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 172-179 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838, es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (dd) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos 141-194 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 136-189 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838, es superior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas. En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene dos o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene tres o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene cuatro o más de las características que se detallan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene cinco o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento

tiene seis o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene siete o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene ocho o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene nueve o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene diez o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene once o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene doce o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene trece o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene catorce o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene quince o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene dieciséis o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene diecisiete o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene dieciocho o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene diecinueve o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-

(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veinte o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veintiún o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veintidós o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veintitrés o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veinticuatro o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veinticinco o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veintiséis o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veintisiete o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veintiocho o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veintinueve o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene las treinta características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd).

[00269] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene una o más de las características que se mencionan en la siguiente lista con los identificadores (a)-(dd): (a) une TF humano en un sitio de unión de TF humano que se distingue de un sitio de unión de TF humano unido por FVIIa humano; (b) no inhibe la generación de trombina humana, según lo

que determina el ensayo de generación de trombina (TGA); (c) no disminuye el pico de trombina en una curva de generación de trombina (Pico IIa) en comparación con un control de isotipo; (d) no aumenta el tiempo desde el inicio del ensayo hasta el pico de trombina en una curva de generación de trombina (Picott) en comparación con un control de isotipo; (e) no disminuye el potencial endógeno de trombina (ETP), según lo que determina el área bajo una curva de generación de trombina en comparación con un control de isotipo; (f) permite la generación de trombina humana, según lo que determina el ensayo de generación de trombina (TGA); (g) mantiene el pico de trombina en una curva de generación de trombina (Pico IIa) en comparación con un control de isotipo; (h) mantiene el tiempo desde el inicio del ensayo hasta el pico de trombina en una curva de generación de trombina (Picott) en comparación con un control de un isotipo; (i) preserva el potencial endógeno de trombina (ETP), según lo que determina el área debajo de una curva de generación de trombina en comparación con un control de isotipo; (j) une TF humano en un sitio de unión de TF humano que se distingue de un sitio de unión de TF humano unido por FX humano; (k) no interfiere en la capacidad de TF:FVIIa para convertir FX en FXa; (l) no compite por unirse a TF humano con FVIIa humano; (m) inhibe la señalización de TF dependiente de FVIIa; (n) se une a TF de mono cangrejero; (o) se une a TF de ratón; (p) se une a TF de conejo; (q) se une a TF de cerdo; (s) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF que comprende una mutación en K149N de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (t) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF que comprende una mutación K68N de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 es superior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según

lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (u) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF que comprende las mutaciones N171H y T197K de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (v) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF con residuos de aminoácidos 1-77 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 1-76 del dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es superior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (w) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF con residuos de aminoácidos 39-77 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 38-76 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es superior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 , según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (x) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF con residuos de aminoácidos 94-107 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 99-112 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es superior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (y) la unión entre el

anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF con residuos de aminoácidos 146-158 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 151-163 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (z) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos 159-219 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 164-224 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (aa) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos 159-189 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 164-194 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (bb) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos 159-174 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 164-179 de dominio extracelular de TF de ratas de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determina el valor de mediana de intensidad de fluorescencia

del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (cc) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos 167-174 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 172-179 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (dd) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos 141-194 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 reemplazados por residuos de aminoácidos 136-189 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 es superior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas. En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene dos o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene tres o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene cuatro o más de las características que se detallan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene cinco o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene seis o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene siete o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas

realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene ocho o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene nueve o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene diez o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene once o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene doce o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene trece o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene catorce o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene quince o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene dieciséis o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene diecisiete o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene dieciocho o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene diecinueve o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veinte o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veintiún o más de las

características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veintidós o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veintitrés o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veinticuatro o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veinticinco o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veintiséis o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veintisiete o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veintiocho o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene veintinueve o más de las características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd). En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene las treinta características que se mencionan en la lista anterior (a)-(dd).

[00270] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento muestra una combinación de características que comprenden dos o más características que se mencionan en la siguiente lista con los identificadores (a)-(dd): (a) une TF humano en un sitio de unión de TF humano que se distingue de un sitio de unión de TF humano unido por FVIIa humano; (b) no inhibe la generación de trombina humana según lo que determina el ensayo de generación de trombina (TGA); (c) no disminuye el pico de trombina en una curva de generación de trombina (Pico IIa) en comparación con un control de isotipo; (d) no aumenta el tiempo desde el inicio del ensayo hasta el pico de trombina en

una curva de generación de trombina (Picott) en comparación con un control de isotipo; (e) no disminuye el potencial endógeno de trombina (ETP), según lo que determina el área debajo de una curva de generación de trombina en comparación con un control de isotipo; (f) permite la generación de trombina humana, según lo que determina el ensayo de generación de trombina (TGA); (g) mantiene el pico de trombina en una curva de generación de trombina (Pico IIa) en comparación con un control de isotipo; (h) mantiene el tiempo desde el inicio del ensayo hasta el pico de trombina en una curva de generación de trombina (Picott) en comparación con un control de isotipo; (i) preserva el potencial endógeno de trombina (ETP), según lo que determina el área debajo de una curva de generación de trombina en comparación con un control de isotipo; (j) une TF humano en un sitio de unión de TF humano que se distingue de un sitio de unión de TF humano unido por FX humano; (k) no interfiere en la capacidad de TF: FVIIa para convertir FX en FXa; (l) no compite por unirse a TF humano con FVIIa humano; (m) inhibe la señalización de TF dependiente de FVIIa; (n) se une a TF de mono cangrejero; (o) se une a TF de ratón; (p) se une a TF de conejo; (q) se une a TF de cerdo; (s) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF que comprende una mutación en el residuo de aminoácidos 149 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (t) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF que comprende una mutación en el residuo de aminoácidos 68 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 es superior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (u) la unión entre el anticuerpo y un dominio

extracelular de la variante de TF que comprende mutaciones en los residuos de aminoácidos 171 y 197 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (v) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF con residuos de aminoácidos 1-77 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 1-76 del dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es superior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determina el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (w) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF con residuos de aminoácidos 39-77 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 38-76 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es superior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (x) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF con residuos de aminoácidos 94-107 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 99-112 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es superior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (y) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF con residuos de

aminoácidos 146-158 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 151-163 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838, es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (z) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos 159-219 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 164-224 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838, es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (aa) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos 159-189 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 164-194 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838, es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (bb) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos 159-174 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 164-179 de dominio extracelular de TF de ratas de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838, es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de

tinción con células vivas; (cc) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos 167-174 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 172-179 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838, es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (dd) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos 141-194 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 136-189 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838, es superior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas.

[00271] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento muestra una combinación de características que comprenden dos o más características que se mencionan en la siguiente lista con los identificadores (a)-(dd): (a) une TF humano en un sitio de unión de TF humano que se distingue de un sitio de unión de TF humano unido por FVIIa humano; (b) no inhibe la generación de trombina humana, según lo que determina el ensayo de generación de trombina (TGA); (c) no disminuye el pico de trombina en una curva de generación de trombina (Pico IIa) en comparación con un control de isotipo; (d) no aumenta el tiempo desde el inicio del ensayo hasta el pico de trombina en una curva de generación de trombina (Picott) en comparación con un control de isotipo; (e) no disminuye el potencial endógeno de trombina (ETP), según lo que determina el área bajo una curva de generación de trombina en comparación con un control de isotipo; (f) permite la generación de trombina humana, según lo

determina el ensayo de generación de trombina (TGA); (g) mantiene el pico de trombina en una curva de generación de trombina (Pico IIa) en comparación con un control de isotipo; (h) mantiene el tiempo desde el inicio del ensayo hasta el pico de trombina en una curva de generación de trombina (Picott) en comparación con un control de un isotipo; (i) preserva el potencial endógeno de trombina (ETP), según lo que determina el área debajo de una curva de generación de trombina en comparación con un control de isotipo; (j) une TF humano en un sitio de unión de TF humano que se distingue de un sitio de unión de TF humano unido por FX humano; (k) no interfiere en la capacidad de TF:FVIIa para convertir FX en FXa; (l) no compite por unirse a TF humano con FVIIa humano; (m) inhibe la señalización de TF dependiente de FVIIa; (n) se une a TF de mono cangrejero; (o) se une a TF de ratón; (p) se une a TF de conejo; (q) se une a TF de cerdo; (s) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF que comprende una mutación K149N de la secuencia que muestra la SEQ ID n.º:810 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que muestra la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (t) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF que comprende una mutación K68N de la secuencia que muestra la SEQ ID n.º:810 es superior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que muestra la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (u) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF que comprende las mutaciones N171H y T197K de la secuencia que muestra la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (v) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF con residuos de aminoácidos 1-77 de la secuencia que

muestra la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 1-76 del dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que muestra la SEQ ID n.º:838 es superior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que muestra la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (w) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF con residuos de aminoácidos 39-77 de la secuencia que muestra la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 38-76 de la secuencia que muestra la SEQ ID n.º:838 es superior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que muestra la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (x) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF con residuos de aminoácidos 94-107 de la secuencia que muestra la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 99-112 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que muestra la SEQ ID n.º:838 es superior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que muestra la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (y) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF con residuos de aminoácidos 146-158 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 151-163 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (z) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos

159-219 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 164-224 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (aa) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos 159-189 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 164-194 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (bb) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos 159-174 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 164-179 de dominio extracelular de TF de ratas de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas; (cc) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos 167-174 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 172-179 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de

tinción con células vivas; (dd) la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de TF humano con residuos de aminoácidos 141-194 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 reemplazados por residuos de aminoácidos 136-189 de dominio extracelular de TF de rata de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:838 es superior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción con células vivas.

[00272] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento muestra una combinación de las características que se mencionan a continuación: une TF humano en un sitio de unión de TF humano que se distingue de un sitio de unión de TF humano unido por FVIIa humano; no muestra la generación de trombina humana, según lo determina el ensayo de generación de trombina (TGA); y la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF que comprende las mutaciones en los residuos de aminoácidos 171 y 197 de la secuencia que muestra la SEQ ID n.°:810 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.°:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinte con células vivas.

[00273] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento muestra una combinación de las características que se detallan a continuación: une TF humano en un sitio de unión de TF humano que se distingue de un sitio de unión de TF humano unido por FVIIa humano; no muestra la generación de trombina humana, según lo que determina el ensayo de generación de trombina (TGA); y la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF que comprende las mutaciones N171H y T197K de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º:810 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se

muestra en la SEQ ID n.°:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinte con células vivas.

[00274] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento muestra una combinación de las características que se detallan a continuación: une TF humano en un sitio de unión de TF humano que se distingue de un sitio de unión de TF humano unido por FVIIa humano; acepta la generación de trombina humana, según lo que determina el ensayo de generación de trombina (TGA); la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF que comprende las mutaciones en los residuos de aminoácidos 171 y 197 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.°:810 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.°:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinte con células vivas.

[00275] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento muestra una combinación de las características que se mencionan a continuación: une TF humano en un sitio de unión de TF humano que se distingue de un sitio de unión de TF humano unido por FVIIa humano; permite la generación de trombina humana, según lo que determina el ensayo de generación de trombina (TGA); y la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF que comprende las mutaciones N171H y T197K de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.°:810 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.°:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinte con células vivas.

[00276] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento muestra una combinación de las características que se mencionan a continuación: une TF humano en un sitio de unión de TF humano que se

distingue de un sitio de unión de TF humano unido por FVIIa humano; no muestra la generación de trombina humana, según lo que determina el ensayo de generación de trombina (TGA); la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF que comprende una mutación en el residuo de aminoácidos 149 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.°:810 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.°:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinte con células vivas; y la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF que comprende mutaciones en los residuos de aminoácidos 171 y 197 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.°:810 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.°:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control isotipo en un ensayo tinte con células vivas.

[00277] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento muestra una combinación de las características que se mencionan a continuación: une TF humano en un sitio de unión de TF humano que se distingue de un sitio de unión de TF humano unido por FVIIa humano; permite la generación de trombina humana, según lo que determina el ensayo de generación de trombina (TGA); la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF que comprende una mutación K149N de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.°:810 es inferior al 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.°:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinte con células vivas; y la unión entre el anticuerpo y un dominio extracelular de la variante de TF que comprende mutaciones N171H y T197K de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.°:810 es inferior al 50% de la unión

entre el anticuerpo y el dominio extracelular de TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.°:810, según lo determinado por el valor de mediana de intensidad de fluorescencia del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinte con células vivas.

[00278] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento muestra una combinación de las características enumeradas a continuación: une el factor tisular (TF) humano a un sitio de unión del TF humano distinto de un sitio de unión de TF unido por el FVIIa; permite la generación de trombina humana como lo determina el ensayo de generación de trombina (TGA); la unión entre el anticuerpo y una variante del dominio extracelular del TF que comprende una mutación en el residuo de aminoácidos 149 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810 es menor de 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, como lo determina el valor de intensidad de fluorescencia mediana del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas; y la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF que comprende mutaciones en el residuo de aminoácidos 171 y 197 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810 es menor de 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, como lo determina el valor de intensidad de fluorescencia mediana del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas.

[00279] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento muestra una combinación de las características enumeradas a continuación: une el TF humano a un sitio de unión del TF humano distinto de un sitio de unión de TF unido por el FVIIa; permite la generación de trombina humana como lo determina el ensayo de generación de trombina (TGA); la unión entre el anticuerpo y una variante del dominio extracelular del TF que comprende una mutación de K149N de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810 es menor de 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF

de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, como lo determina el valor de intensidad de fluorescencia mediana del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas; y la unión entre el anticuerpo y una variante del dominio extracelular del TF que comprende mutaciones de N171H y T197K de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810 es menor a 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, como lo determina el valor de intensidad de fluorescencia mediana del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas.

[00280] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento muestra una combinación de las características enumeradas a continuación: une el factor tisular (TF) humano a un sitio de unión del factor tisular humano distinto de un sitio de unión de TF unido por el FVIIa; no inhibe la generación de trombina humana como lo determina el ensayo de generación de trombina (TGA); se une al TF de macaco; la unión entre el anticuerpo y una variante del dominio extracelular del TF que comprende una mutación en el residuo de aminoácidos 149 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810 es menor de 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810; y la unión entre el anticuerpo y una variante del dominio extracelular del TF que comprende mutaciones en los residuos de aminoácidos 171 y 197 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810 es menor a 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, como lo determina el valor de intensidad de fluorescencia mediana del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas.

[00281] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento muestra una combinación de las características enumeradas a continuación: une el factor tisular (TF) humano a un sitio de unión del factor tisular humano distinto de un sitio de unión de TF unido por el FVIIa; no inhibe la

generación de trombina humana como lo determina el ensayo de generación de trombina (TGA); se une al TF de macaco, la unión entre el anticuerpo y una variante del dominio extracelular del TF que comprende una mutación en del K149N de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810 es menor de 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810; como se determina por el valor de intensidad de fluorescencia mediana del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas; y la unión entre el anticuerpo y una variante del dominio extracelular del TF que comprende mutaciones de N171H y T197K de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810 es menor a 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, como lo determina el valor de intensidad de fluorescencia mediana del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas.

[00282] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento muestra una combinación de las características enumeradas a continuación: une el factor tisular (TF) humano a un sitio de unión del TF humano distinto de un sitio de unión de TF unido por el FVIIa; permite la generación de trombina humana como lo determina el ensayo de generación de trombina (TGA); se une al TF de macaco, la unión entre el anticuerpo y una variante del dominio extracelular del TF que comprende una mutación en el residuo de aminoácidos 149 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810 es menor de 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, como lo determina el valor de intensidad de fluorescencia mediana del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas, y la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF que comprende mutaciones en el residuo de aminoácidos 171 y 197 de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810 es menor de 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, como lo determina el valor

de intensidad de fluorescencia mediana del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas.

[00283] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento muestra una combinación de las características enumeradas a continuación: une el TF humano a un sitio de unión del TF humano distinto de un sitio de unión de TF unido por el FVIIa; permite la generación de trombina humana como lo determina el ensayo de generación de trombina (TGA), se une al TF de macaco; la unión entre el anticuerpo y una variante del dominio extracelular del TF que comprende una mutación de K149N de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810 es menor de 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, como lo determina el valor de intensidad de fluorescencia mediana del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas; y la unión ente el anticuerpo y un dominio extracelular del TF que comprende mutaciones de N171H y T197K de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810 es menor de 50% de la unión entre el anticuerpo y el dominio extracelular del TF de la secuencia que se muestra en la SEQ ID n.º 810, como lo determina el valor de intensidad de fluorescencia mediana del anticuerpo relativo a un control de isotipo en un ensayo de tinción de células vivas.

2.3. Afinidad y otras propiedades de anticuerpos del TF

2.3.1. Afinidad de anticuerpos del TF

[00284] En algunas realizaciones, la afinidad de un anticuerpo proporcionado en el presente documento para TF como se indica por K_D es menos que aproximadamente 10^{-5} M, menos que aproximadamente 10^{-6} M, menos que aproximadamente 10^{-7} M, menos que aproximadamente 10^{-8} M, menos que aproximadamente 10^{-9} M, menos que aproximadamente 10^{-10} M, menos que aproximadamente 10^{-11} M, menos que aproximadamente 10^{-12} M. En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo es de entre aproximadamente 10^{-7} M y 10^{-12} M. En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo es de entre aproximadamente 10^{-7} M y 10^{-11} M. En algunas realizaciones, la afinidad del

anticuerpo es de entre aproximadamente 10^{-7} M y 10^{-10} M. En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo es de entre aproximadamente 10^{-7} M y 10^{-9} M. En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo es de entre aproximadamente 10^{-7} M y 10^{-8} M. En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo es de entre aproximadamente 10^{-8} M y 10^{-12} M. En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo es de entre aproximadamente 10^{-8} M y 10^{-11} M. En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo es de entre aproximadamente 10^{-9} M y 10^{-11} M. En algunas realizaciones, la afinidad del anticuerpo es de entre aproximadamente 10^{-10} M y 10^{-11} M.

[00285] En algunas realizaciones, el valor de K_D de un anticuerpo proporcionado en el presente documento para el TF de macaco (cTF) no es mayor que el 15× del valor K_D del anticuerpo para TF humano (hTF). En algunas realizaciones, el valor de K_D de un anticuerpo proporcionado en el presente documento para el TF de macaco (cTF) no es mayor que el 10× del valor K_D del anticuerpo para TF humano (hTF). En algunas realizaciones, el valor de K_D de un anticuerpo proporcionado en el presente documento para el TF de macaco (cTF) no es mayor que el 8× del valor K_D del anticuerpo para TF humano (hTF). En algunas realizaciones, el valor de K_D de un anticuerpo proporcionado en el presente documento para el TF de macaco (cTF) no es mayor que el 5× del valor K_D del anticuerpo para TF humano (hTF). En algunas realizaciones, el valor de K_D de un anticuerpo proporcionado en el presente documento para el TF de macaco (cTF) no es mayor que el 3× del valor K_D del anticuerpo para TF humano (hTF). En algunas realizaciones, el valor de K_D de un anticuerpo proporcionado en el presente documento para el TF de macaco (cTF) no es mayor que el 2× del valor K_D del anticuerpo para TF humano (hTF).

[00286] En algunas realizaciones, el valor de K_D de un anticuerpo proporcionado en el presente documento para el TF murino (hTF) no es mayor que el 20× del valor K_D del anticuerpo para hTF. En algunas realizaciones, el valor de K_D de un anticuerpo proporcionado en el presente documento para el TF murino (mTF) no es mayor que el 15× del valor K_D del anticuerpo para hTF. En algunas

realizaciones, el valor de K_D de un anticuerpo proporcionado en el presente documento para el TF murino (mTF) no es mayor que el 10× del valor K_D del anticuerpo para hTF. En algunas realizaciones, el valor de K_D de un anticuerpo proporcionado en el presente documento para el TF murino (mTF) no es mayor que el 5× del valor K_D del anticuerpo para hTF. En algunas realizaciones, el valor de K_D de un anticuerpo proporcionado en el presente documento para el TF murino (mTF) no es mayor que el 2× del valor K_D del anticuerpo para hTF.

[00287] En algunas realizaciones, la afinidad de un anticuerpo presentado en el presente documento para el hTF como se indica por K_D medido por Biacore, como se establece en la **Tabla 5** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 0,31 nM, aproximadamente 6,20 nM, aproximadamente 0,36 nM, aproximadamente 0,08 nM, aproximadamente 23,0 nM, aproximadamente 0,94 nM, aproximadamente 13,3 nM, aproximadamente 0,47 nM, aproximadamente 0,09 nM, aproximadamente 1,75 nM, aproximadamente 0,07 nM, aproximadamente 0,14 nM, aproximadamente 2,09 nM, aproximadamente 0,06 nM, aproximadamente 0,15 nM, aproximadamente 1,46 nM, aproximadamente 1,60 nM y aproximadamente 0,42 nM. En algunas realizaciones, tal afinidad como se indica por K_D varía de aproximadamente 23,0 nM a aproximadamente 0,06 nM. En algunas realizaciones, esta es de aproximadamente 23,0 nM o menor.

[00288] En algunas realizaciones, la afinidad de un anticuerpo presentado en el presente documento para el hTF como se indica por K_D medido por ForteBio, como se establece en la **Tabla 5** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 1,28 nM, aproximadamente 2,20 nM, aproximadamente 8,45 nM, aproximadamente 1,67 nM, aproximadamente 0,64 nM, aproximadamente 21,9 nM, aproximadamente 3,97 nM, aproximadamente 35,8 nM, aproximadamente 3,30 nM, aproximadamente 2,32 nM, aproximadamente 0,83 nM, aproximadamente 2,40 nM, aproximadamente 0,96 nM, aproximadamente

0,86 nM, aproximadamente 3,84 nM, aproximadamente 1,02 nM, aproximadamente 1,61 nM, aproximadamente 2,52 nM, aproximadamente 2,28 nM y aproximadamente 1,59 nM. En algunas realizaciones, tal afinidad como se indica por K_D varía de aproximadamente 35,8 nM a aproximadamente 0,64 nM. En algunas realizaciones, esta constante de disociación de equilibrio K_D es de aproximadamente 35,8 nM o menor.

[00289] En algunas realizaciones, la afinidad de un anticuerpo presentado en el presente documento para el cTF como se indica por K_D medido por Biacore, como se establece en la **Tabla 5** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 0,26 nM, aproximadamente 5,42 nM, aproximadamente 0,21 nM, aproximadamente 0,04 nM, aproximadamente 18,0 nM, aproximadamente 0,78 nM, aproximadamente 16,4 nM, aproximadamente 5,06 nM, aproximadamente 0,08 nM, aproximadamente 5,64 nM, aproximadamente 0,12 nM, aproximadamente 0,24 nM, aproximadamente 5,66 nM, aproximadamente 0,39 nM, aproximadamente 5,69 nM, aproximadamente 6,42 nM y aproximadamente 1,83 nM. En algunas realizaciones, tal afinidad como se indica por K_D varía de aproximadamente 18,0 nM a aproximadamente 0,04 nM. En algunas realizaciones, esta constante de disociación de equilibrio K_D es de aproximadamente 18,0 nM o menor.

[00290] En algunas realizaciones, la afinidad de un anticuerpo presentado en el presente documento para el cTF como se indica por K_D medido por ForteBio, como se establece en la **Tabla 5** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 1,43 nM, aproximadamente 2,70 nM, aproximadamente 7,65 nM, aproximadamente 1,36 nM, aproximadamente 0,76 nM, aproximadamente 17,5 nM, aproximadamente 4,99 nM, aproximadamente 42,9 nM, aproximadamente 12,0 nM, aproximadamente 15,0 nM, aproximadamente 0,57 nM, aproximadamente 3,40 nM, aproximadamente 1,05 nM, aproximadamente 0,94 nM, aproximadamente 4,12 nM, aproximadamente 1,11 nM,

aproximadamente 1,96 nM, aproximadamente 4,07 nM, aproximadamente 2,71 nM y aproximadamente 4,16 nM. En algunas realizaciones, tal afinidad como se indica por K_D varía de aproximadamente 42,9 nM a aproximadamente 0,57 nM. En algunas realizaciones, esta constante de disociación de equilibrio K_D es de aproximadamente 42,9 nM o menor.

[00291] En algunas realizaciones, la afinidad de un anticuerpo presentado en el presente documento para mTF como se indica por K_D medido por Biacore, como se establece en la **Tabla 5** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona desde aproximadamente 5,4 nM, aproximadamente 2,9 nM y aproximadamente 21 nM y aproximadamente 2,4 nM. En algunas realizaciones, tal afinidad como se indica por K_D varía de aproximadamente 21 nM a aproximadamente 2,4 nM. En algunas realizaciones, esta constante de disociación de equilibrio K_D es de aproximadamente 21 nM o menor.

[00292] En algunas realizaciones, la afinidad de un anticuerpo presentado en el presente documento para el mTF como se indica por K_D medido por ForteBio, como se establece en la **Tabla 5** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 263 nM, aproximadamente 131 nM, aproximadamente 188 nM, aproximadamente 114 nM, aproximadamente 34,2 nM, aproximadamente 9,16 nM, aproximadamente 161 nM, aproximadamente 72,1 nM, aproximadamente 360 nM, aproximadamente 281 nM, aproximadamente 41,4 nM, aproximadamente 6,12 nM, aproximadamente 121 nM y aproximadamente 140 nM. En algunas realizaciones, tal afinidad como se indica por K_D varía de aproximadamente 360 nM a aproximadamente 6,12 nM. En algunas realizaciones, esta constante de disociación de equilibrio K_D es de aproximadamente 360 nM o menor.

[00293] En algunas realizaciones, la afinidad de un anticuerpo presentado en el presente documento para el hTF como se indica por EC_{50} medido con células HCT-116 positivas de TF humano, como se establece en la **Figura 1A y 1B** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de

aproximadamente 50 pM, aproximadamente 58 pM, aproximadamente 169 pM, aproximadamente 77 pM, aproximadamente 88 pM, aproximadamente 134 pM, aproximadamente 85 pM, aproximadamente 237 pM, aproximadamente 152 pM, aproximadamente 39 pM, aproximadamente 559 pM, aproximadamente 280 pM, aproximadamente 255 pM, aproximadamente 147 pM, aproximadamente 94 pM, aproximadamente 117 pM, aproximadamente 687 pM, aproximadamente 532 pM y aproximadamente 239 pM. En algunas realizaciones, tal afinidad varía de aproximadamente 687 pM a aproximadamente 39 pM. En algunas realizaciones, este EC_{50} es de aproximadamente 687 pM o menor.

[00294] En algunas realizaciones, la afinidad de un anticuerpo presentado en el presente documento para el mTF como se indica por EC_{50} medido con células de ovario de hámster chino (CHO) positivas de TF de ratón, como se establece en la **Figura 2A y 2B** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 455 nM, aproximadamente 87 nM, aproximadamente 11 nM, aproximadamente 3,9 nM, aproximadamente 3,0 nM, aproximadamente 3,4 nM, aproximadamente 255 nM, aproximadamente 2,9 nM, aproximadamente 3,6 nM y aproximadamente 4,0 nM. En algunas realizaciones, tal afinidad varía de aproximadamente 455 nM a aproximadamente 2,9 nM. En algunas realizaciones, este EC_{50} es de aproximadamente 455 pM o menor.

[00295] En algunas realizaciones, el valor de K_D de un anticuerpo proporcionado en el presente documento para el TF de cerdo (pTF) no es mayor que el 20× del valor K_D del anticuerpo para hTF. En algunas realizaciones, el valor de K_D de un anticuerpo proporcionado en el presente documento para el TF de cerdo (pTF) no es mayor que el 15× del valor K_D del anticuerpo para hTF. En algunas realizaciones, el valor de K_D de un anticuerpo proporcionado en el presente documento para el TF de cerdo (pTF) no es mayor que el 10× del valor K_D del anticuerpo para hTF. En algunas realizaciones, el valor de K_D de un anticuerpo proporcionado en el presente documento para el TF de cerdo (pTF) no es mayor que el 5× del valor K_D del anticuerpo para hTF. En algunas realizaciones, el valor

de K_D de un anticuerpo proporcionado en el presente documento para el TF de cerdo (pTF) no es mayor que el 2× del valor K_D del anticuerpo para hTF.

[00296] En algunas realizaciones, la afinidad de un anticuerpo presentado en el presente documento para pTF como se indica por K_D medido por Biacore, como se establece en la Tabla 40 de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 es de 3,31 nM o 12,9 nM.

2.3.2. Generación de trombina en presencia de anticuerpos de TF

[00297] En algunas realizaciones, los anticuerpos de TF proporcionados en el presente documento no inhiben la generación de trombina humana como lo determina el ensayo de generación de trombina (TGA). En determinadas realizaciones, los anticuerpos de TF proporcionados en el presente documento permiten la generación de trombina humana como lo determina el ensayo de generación de trombina (TGA).

[00298] En algunas realizaciones, el porcentaje de generación de trombina pico (% pico de IIa) es al menos de 40% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 50% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 60% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 70% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 80% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo

de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 90% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 95% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 99% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA).

[00299] En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 40% en presencia de no menos de 50 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 50% en presencia de no menos de 50 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 60% en presencia de no menos de 50 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 70% en presencia de no menos de 50 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 80% en presencia de no menos de 50 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 90% en presencia de no menos de 50 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el

anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 95% en presencia de no menos de 50 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 99% en presencia de no menos de 50 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA).

[00300] En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 60% en presencia de no menos de 10 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 70% en presencia de no menos de 10 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 80% en presencia de no menos de 10 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 90% en presencia de no menos de 10 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 95% en presencia de no menos de 10 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % pico de IIa es al menos de 99% en presencia de no menos de 10 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA).

[00301] En algunas realizaciones, el % pico de IIa en presencia de 100 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 6** y **Tabla 37** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 99%, aproximadamente 100%, aproximadamente 103%, aproximadamente 64%, aproximadamente 52%, aproximadamente 87%, aproximadamente 96%, aproximadamente 98% y aproximadamente 53% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina por el ensayo de generación de trombina (TGA) sin preincubación de anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % pico de IIa varía de aproximadamente 52% a aproximadamente 103%. En algunas realizaciones, ese % pico de IIa varía de aproximadamente 52% o más.

[00302] En algunas realizaciones, el % pico de IIa en presencia de 50 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 6** y **Tabla 37** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 99%, aproximadamente 100%, aproximadamente 103%, aproximadamente 67%, aproximadamente 58%, aproximadamente 89%, aproximadamente 96%, aproximadamente 98%, aproximadamente 68%, aproximadamente 62% y aproximadamente 88% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina por el ensayo de generación de trombina (TGA) sin preincubación de anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % pico de IIa varía de aproximadamente 58% a aproximadamente 103%. En algunas realizaciones, ese % pico de IIa varía de aproximadamente 58% o más.

[00303] En algunas realizaciones, el % pico de IIa en presencia de 10 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 6** y **Tabla 37** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 100%, aproximadamente 99%, aproximadamente 103%, aproximadamente 87%, aproximadamente 83%, aproximadamente 95%, aproximadamente 98%, aproximadamente 86% y aproximadamente 96% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina

por el ensayo de generación de trombina (TGA) sin preincubación de anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % pico de IIa varía de aproximadamente 83% a aproximadamente 103%. En algunas realizaciones, ese % pico de IIa varía de aproximadamente 83% o más.

[00304] En algunas realizaciones, el % pico de IIa en presencia de 100 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 7** y **Tabla 38** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 108%, aproximadamente 105%, aproximadamente 111%, aproximadamente 58%, aproximadamente 47%, aproximadamente 91%, aproximadamente 103%, aproximadamente 109%, aproximadamente 107% y aproximadamente 45% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina por el ensayo de generación de trombina (TGA) con 10 min de preincubación de anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % pico de IIa varía de aproximadamente 45% a aproximadamente 111%. En algunas realizaciones, ese % pico de IIa varía de aproximadamente 45% o más.

[00305] En algunas realizaciones, el % pico de IIa en presencia de 50 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 7** y **Tabla 38** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 107%, aproximadamente 104%, aproximadamente 114%, aproximadamente 62%, aproximadamente 49%, aproximadamente 87%, aproximadamente 105%, aproximadamente 109%, aproximadamente 55% y aproximadamente 92% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina por el ensayo de generación de trombina (TGA) con 10 min de preincubación de anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % pico de IIa varía de aproximadamente 49% a aproximadamente 114%. En algunas realizaciones, ese % pico de IIa varía de aproximadamente 49% o más.

[00306] En algunas realizaciones, el % pico de IIa en presencia de 10 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 7** y **Tabla 38** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 105%, aproximadamente 114%, aproximadamente 76%,

aproximadamente 68%, aproximadamente 94%, aproximadamente 108%, aproximadamente 104%, aproximadamente 74% y aproximadamente 93% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina por el ensayo de generación de trombina (TGA) con 10 min de preincubación de anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % pico de IIa varía de aproximadamente 68% a aproximadamente 114%. En algunas realizaciones, ese % pico de IIa varía de aproximadamente 68% o más.

[00307] En algunas realizaciones, el porcentaje de potencial de trombina endógeno (% de ETP) es al menos de 80% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % de ETP es al menos de 90% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % de ETP es al menos de 95% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % de ETP es al menos de 99% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA).

[00308] En algunas realizaciones, el % de ETP es al menos de 80% en presencia de no menos de 50 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % de ETP es al menos de 90% en presencia de no menos de 50 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % de ETP es al menos de 95% en presencia de no menos de 50 nM de

anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % de ETP es al menos de 99% en presencia de no menos de 50 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA).

[00309] En algunas realizaciones, el % de ETP es al menos de 80% en presencia de no menos de 10 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % de ETP es al menos de 90% en presencia de no menos de 10 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % de ETP es al menos de 95% en presencia de no menos de 10 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA). En algunas realizaciones, el % de ETP es al menos de 99% en presencia de no menos de 10 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina mediante el ensayo de generación de trombina (TGA).

[00310] En algunas realizaciones, el % de ETP en presencia de 100 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 6** y **Tabla 37** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 108%, aproximadamente 103%, aproximadamente 109%, aproximadamente 100%, aproximadamente 96%, aproximadamente 102%, aproximadamente 105% y aproximadamente 92% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina por el ensayo de generación de trombina (TGA) sin preincubación de anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de ETP varía de aproximadamente 92% a

aproximadamente 109%. En algunas realizaciones, ese % de ETP varía de aproximadamente 92% o más.

[00311] En algunas realizaciones, el % de ETP en presencia de 50 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 6** y **Tabla 37** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 108%, aproximadamente 103%, aproximadamente 111%, aproximadamente 101%, aproximadamente 97%, aproximadamente 104%, aproximadamente 106%, aproximadamente 93%, aproximadamente 96% y aproximadamente 105% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina por el ensayo de generación de trombina (TGA) sin preincubación de anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de ETP varía de aproximadamente 93% a aproximadamente 111%. En algunas realizaciones, ese % de ETP varía de aproximadamente 93% o más.

[00312] En algunas realizaciones, el % de ETP en presencia de 10 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 6** y **Tabla 37** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 106%, aproximadamente 109%, aproximadamente 105%, aproximadamente 104%, aproximadamente 107%, aproximadamente 99%, aproximadamente 101% y aproximadamente 102% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina por el ensayo de generación de trombina (TGA) sin preincubación de anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de ETP varía de aproximadamente 99% a aproximadamente 109%. En algunas realizaciones, ese % de ETP varía de aproximadamente 99% o más.

[00313] En algunas realizaciones, el % de ETP en presencia de 100 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 7** y **Tabla 38** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 110%, aproximadamente 104%, aproximadamente 106%, aproximadamente 98%, aproximadamente 95%, aproximadamente 108%, aproximadamente 107%, aproximadamente 96%, aproximadamente 92% y

aproximadamente 103% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina por el ensayo de generación de trombina (TGA) con 10 min de preincubación de anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de ETP varía de aproximadamente 92% a aproximadamente 110%. En algunas realizaciones, ese % de ETP varía de aproximadamente 92% o más.

[00314] En algunas realizaciones, el % de ETP en presencia de 50 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 7** y **Tabla 38** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 110%, aproximadamente 106%, aproximadamente 108%, aproximadamente 103%, aproximadamente 96%, aproximadamente 109%, aproximadamente 102%, aproximadamente 104%, aproximadamente 94% y aproximadamente 98% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina por el ensayo de generación de trombina (TGA) con 10 min de preincubación de anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de ETP varía de aproximadamente 94% a aproximadamente 110%. En algunas realizaciones, ese % de ETP varía de aproximadamente 94% o más.

[00315] En algunas realizaciones, el % de ETP en presencia de 10 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 7** y **Tabla 38** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 107%, aproximadamente 106%, aproximadamente 110%, aproximadamente 103%, aproximadamente 100%, aproximadamente 105%, aproximadamente 102% y aproximadamente 101% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo, como se determina por el ensayo de generación de trombina (TGA) con 10 min de preincubación de anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de ETP varía de aproximadamente 100% a aproximadamente 110%. En algunas realizaciones, ese % de ETP varía de aproximadamente 100% o más.

2.3.3. Conversión de FXa en presencia de anticuerpos de TF

[00316] En algunas realizaciones, los anticuerpos provistos en el presente documento se unen a TF humano en un sitio de unión de TF humano que es

distinto a un sitio de unión de TF humano unido por FX humano. En ciertas realizaciones, los anticuerpos provistos en el presente documento no interfieren con la capacidad de TF:FVIIa para convertir FX en FXa.

[00317] En algunas realizaciones, el porcentaje de conversión del FXa (% de FXa) es al menos de 75% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FXa es al menos de 80% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FXa es al menos de 85% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FXa es al menos de 90% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FXa es al menos de 95% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo.

[00318] En algunas realizaciones, el % de FXa es al menos de 75% en presencia de no menos de 50 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FXa es al menos de 80% en presencia de no menos de 50 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FXa es al menos de 85% en presencia de no menos de 50 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FXa es al menos de 90% en presencia de no menos de 50 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FXa es al menos de 95% en presencia de no menos de 50 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo.

[00319] En algunas realizaciones, el % de FXa es al menos de 75% en presencia de no menos de 25 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones

de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FXa es al menos de 80% en presencia de no menos de 25 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FXa es al menos de 85% en presencia de no menos de 25 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FXa es al menos de 90% en presencia de no menos de 25 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FXa es al menos de 95% en presencia de no menos de 25 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo.

[00320] En algunas realizaciones, el % de FXa es al menos de 75% en presencia de no menos de 12,5 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FXa es al menos de 80% en presencia de no menos de 12,5 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FXa es al menos de 85% en presencia de no menos de 12,5 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FXa es al menos de 90% en presencia de no menos de 12,5 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FXa es al menos de 95% en presencia de no menos de 12,5 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo.

[00321] En algunas realizaciones, el % de FXa en presencia de 100 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 8** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 89%, aproximadamente 96%, aproximadamente 116%, aproximadamente 108%, aproximadamente 117%, aproximadamente 105%, aproximadamente 112%, aproximadamente 106%, aproximadamente 103%, aproximadamente 111%, aproximadamente 98% y aproximadamente 101% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de

FXa varía de aproximadamente 89% a aproximadamente 117%. En algunas realizaciones, ese % de FXa varía de aproximadamente 89% o más.

[00322] En algunas realizaciones, el % de FXa en presencia de 50 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 8** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 94%, aproximadamente 93%, aproximadamente 78%, aproximadamente 102%, aproximadamente 99%, aproximadamente 104%, aproximadamente 105%, aproximadamente 108%, aproximadamente 107%, aproximadamente 97% y aproximadamente 106% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de FXa varía de aproximadamente 78% a aproximadamente 108%. En algunas realizaciones, ese % de FXa varía de aproximadamente 78% o más.

[00323] En algunas realizaciones, el % de FXa en presencia de 25 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 8** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 81%, aproximadamente 89%, aproximadamente 85%, aproximadamente 109%, aproximadamente 96%, aproximadamente 97%, aproximadamente 108%, aproximadamente 104%, aproximadamente 103%, aproximadamente 112% y aproximadamente 89% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de FXa varía de aproximadamente 81% a aproximadamente 112%. En algunas realizaciones, ese % de FXa varía de aproximadamente 81% o más.

[00324] En algunas realizaciones, el % de FXa en presencia de 12,5 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 8** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 87%, aproximadamente 89%, aproximadamente 82%, aproximadamente 99%, aproximadamente 101%, aproximadamente 98%, aproximadamente 113%, aproximadamente 106%, aproximadamente 115%, aproximadamente 110%, aproximadamente 120% aproximadamente 85% y aproximadamente 108% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas

realizaciones, ese % de FXa varía de aproximadamente 82% a aproximadamente 120%. En algunas realizaciones, ese % de FXa varía de aproximadamente 82% o más.

2.3.4. Unión de FVIIa en presencia de anticuerpos de TF

[00325] En algunas realizaciones, los anticuerpos provistos en el presente documento se unen a TF humano en un sitio de unión de TF humano que es distinto a un sitio de unión de TF humano unido por FVIIa humano. En determinadas realizaciones, los anticuerpos provistos en el presente documento no compiten por unirse al TF humano con FVIIa humano.

[00326] En algunas realizaciones, el porcentaje de unión de FVIIa (% de FVIIa) es al menos de 75% en presencia de no menos de 250 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FVIIa es al menos de 80% en presencia de no menos de 250 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FVIIa es al menos de 85% en presencia de no menos de 250 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FVIIa es al menos de 90% en presencia de no menos de 250 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FVIIa es al menos de 95% en presencia de no menos de 250 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo.

[00327] En algunas realizaciones, el % de FVIIa es al menos de 75% en presencia de no menos de 83 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FVIIa es al menos de 80% en presencia de no menos de 83 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FVIIa es al menos de 85% en presencia de no menos de 83 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FVIIa es al menos de 90% en

presencia de no menos de 83 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FVIIa es al menos de 95% en presencia de no menos de 83 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo.

[00328] En algunas realizaciones, el % de FVIIa es al menos de 75% en presencia de no menos de 28 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FVIIa es al menos de 80% en presencia de no menos de 28 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FVIIa es al menos de 85% en presencia de no menos de 28 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FVIIa es al menos de 90% en presencia de no menos de 28 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FVIIa es al menos de 95% en presencia de no menos de 28 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo.

[00329] En algunas realizaciones, el % de FVIIa es al menos de 75% en presencia de no menos de 9,25 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FVIIa es al menos de 80% en presencia de no menos de 9,25 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FVIIa es al menos de 85% en presencia de no menos de 9,25 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FVIIa es al menos de 90% en presencia de no menos de 9,25 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, el % de FVIIa es al menos de 95% en presencia de no menos de 9,25 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo.

[00330] En algunas realizaciones, el % de FVIIa en presencia de 250 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 9** de PCT/US2019/12427,

presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 98%, aproximadamente 87%, aproximadamente 80%, aproximadamente 92%, aproximadamente 95%, aproximadamente 89%, aproximadamente 91%, aproximadamente 97%, aproximadamente 94%, aproximadamente 101% y aproximadamente 96% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de FVIIa varía de aproximadamente 80% a aproximadamente 101%. En algunas realizaciones, ese % de FVIIa es de aproximadamente 80% o más.

[00331] En algunas realizaciones, el % de FVIIa en presencia de 83 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 9** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 97%, aproximadamente 88%, aproximadamente 77%, aproximadamente 93%, aproximadamente 94%, aproximadamente 91%, aproximadamente 98%, aproximadamente 100% y aproximadamente 92% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de FVIIa varía de aproximadamente 77% a aproximadamente 100%. En algunas realizaciones, ese % de FVIIa es de aproximadamente 77% o más.

[00332] En algunas realizaciones, el % de FVIIa en presencia de 28 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 9** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 101%, aproximadamente 87%, aproximadamente 79%, aproximadamente 96%, aproximadamente 93%, aproximadamente 95%, aproximadamente 98%, aproximadamente 100%, aproximadamente 102%, aproximadamente 99%, aproximadamente 92% y aproximadamente 91% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de FVIIa varía de aproximadamente 79% a aproximadamente 102%. En algunas realizaciones, ese % de FVIIa es de aproximadamente 79% o más.

[00333] En algunas realizaciones, el % de FVIIa en presencia de 9,25 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 9** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente

100%, aproximadamente 90%, aproximadamente 76%, aproximadamente 97%, aproximadamente 93%, aproximadamente 99%, aproximadamente 98%, aproximadamente 102%, aproximadamente 101% y aproximadamente 95% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de FVIIa varía de aproximadamente 76% a aproximadamente 102%. En algunas realizaciones, ese % de FVIIa es de aproximadamente 76% o más.

2.3.5. Señalización de TF dependiente de FVIIa en presencia de anticuerpos de TF

[00334] En algunas realizaciones, los anticuerpos provistos en el presente documento inhiben la señalización de TF que depende de FVIIa. En algunas realizaciones, la inhibición de la señalización de TF dependiente de FVIIa se mide por la reducción de interleucina 8 (IL8). En algunas realizaciones, la inhibición de la señalización de TF dependiente de FVIIa se mide por la reducción del factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF).

[00335] En algunas realizaciones, la concentración de Interleucina 8 (conc. de IL8) se reduce a al menos un 70% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de IL8 se reduce a al menos un 80% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de IL8 se reduce a al menos un 90% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo.

[00336] En algunas realizaciones, la conc. de IL8 se reduce a al menos un 70% en presencia de no menos de 40 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de IL8 se reduce a al menos un 80% en presencia de no menos de 40 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de IL8 se reduce a al menos un

90% en presencia de no menos de 40 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo.

[00337] En algunas realizaciones, la conc. de IL8 se reduce a al menos un 60% en presencia de no menos de 16 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de IL8 se reduce a al menos un 70% en presencia de no menos de 16 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de IL8 se reduce a al menos un 80% en presencia de no menos de 16 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de IL8 se reduce a al menos un 90% en presencia de no menos de 16 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo.

[00338] En algunas realizaciones, la conc. de IL8 se reduce a al menos un 50% en presencia de no menos de 6,4 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de IL8 se reduce a al menos un 60% en presencia de no menos de 6,4 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de IL8 se reduce a al menos un 70% en presencia de no menos de 6,4 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de IL8 se reduce a al menos un 80% en presencia de no menos de 6,4 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de IL8 se reduce a al menos un 90% en presencia de no menos de 6,4 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo.

[00339] En algunas realizaciones, la concentración del factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (conc. de GM-CSF) se reduce a al menos un 70% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas

realizaciones, la conc. de GM-CSF se reduce a al menos un 80% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de GM-CSF se reduce a al menos un 90% en presencia de no menos de 100 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo.

[00340] En algunas realizaciones, la conc. de GM-CSF se reduce a al menos un 70% en presencia de no menos de 40 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de GM-CSF se reduce a al menos un 80% en presencia de no menos de 40 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de GM-CSF se reduce a al menos un 90% en presencia de no menos de 40 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo.

[00341] En algunas realizaciones, la conc. de GM-CSF se reduce a al menos un 60% en presencia de no menos de 16 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de GM-CSF se reduce a al menos un 70% en presencia de no menos de 16 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de GM-CSF se reduce a al menos un 80% en presencia de no menos de 16 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de GM-CSF se reduce a al menos un 90% en presencia de no menos de 16 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo.

[00342] En algunas realizaciones, la conc. de GM-CSF se reduce a al menos un 50% en presencia de no menos de 6,4 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de GM-CSF se reduce a al menos un 60% en presencia de no menos de 6,4 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin

el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de GM-CSF se reduce a al menos un 70% en presencia de no menos de 6,4 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de GM-CSF se reduce a al menos un 80% en presencia de no menos de 6,4 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, la conc. de GM-CSF se reduce a al menos un 90% en presencia de no menos de 6,4 nM de anticuerpo de TF en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo.

[00343] En algunas realizaciones, el porcentaje de Interleucina 8 (% de IL8) en presencia de 100 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 10** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 2%, aproximadamente 9%, aproximadamente 8%, aproximadamente 6%, aproximadamente 13%, aproximadamente 1%, aproximadamente 3%, aproximadamente 4% y aproximadamente 5% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de IL8 varía de aproximadamente 1% a aproximadamente 13%. En algunas realizaciones, ese % de IL8 es de aproximadamente 13% o menos.

[00344] En algunas realizaciones, el % de IL8 en presencia de 40 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 10** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 2%, aproximadamente 8%, aproximadamente 7%, aproximadamente 10%, aproximadamente 14%, aproximadamente 4%, aproximadamente 5% y aproximadamente 6% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de IL8 varía de aproximadamente 2% a aproximadamente 14%. En algunas realizaciones, ese % de IL8 es de aproximadamente 14% o menos.

[00345] En algunas realizaciones, el % de IL8 en presencia de 16 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 10** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente

2%, aproximadamente 3%, aproximadamente 10%, aproximadamente 8%, aproximadamente 7%, aproximadamente 16%, aproximadamente 9%, aproximadamente 15%, aproximadamente 5% y aproximadamente 6% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de IL8 varía de aproximadamente 2% a aproximadamente 16%. En algunas realizaciones, ese % de IL8 es de aproximadamente 16% o menos.

[00346] En algunas realizaciones, el % de IL8 en presencia de 6,4 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 10** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 3%, aproximadamente 4%, aproximadamente 11%, aproximadamente 9%, aproximadamente 14%, aproximadamente 22%, aproximadamente 12%, aproximadamente 6%, aproximadamente 5%, aproximadamente 15%, aproximadamente 21% y aproximadamente 8% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de IL8 varía de aproximadamente 3% a aproximadamente 22%. En algunas realizaciones, ese % de IL8 es de aproximadamente 22% o menos.

[00347] En algunas realizaciones, el porcentaje de factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (% de GM-CSF) en presencia de 100 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 11** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 6%, aproximadamente 7%, aproximadamente 22%, aproximadamente 20%, aproximadamente 12%, aproximadamente 19%, aproximadamente 17%, aproximadamente 25%, aproximadamente 5%, aproximadamente 14%, aproximadamente 11% y aproximadamente 10% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de GM-CSF varía de aproximadamente 5% a aproximadamente 25%. En algunas realizaciones, ese % de GM-CSF es de aproximadamente 25% o menos.

[00348] En algunas realizaciones, el % de GM-CSF en presencia de 40 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 11** de PCT/US2019/12427,

presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 6%, aproximadamente 7%, aproximadamente 19%, aproximadamente 15%, aproximadamente 18%, aproximadamente 16%, aproximadamente 26%, aproximadamente 5%, aproximadamente 13%, aproximadamente 11% y aproximadamente 10% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de GM-CSF varía de aproximadamente 5% a aproximadamente 26%. En algunas realizaciones, ese % de GM-CSF es de aproximadamente 26% o menos.

[00349] En algunas realizaciones, el % de GM-CSF en presencia de 16 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 11** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 6%, aproximadamente 7%, aproximadamente 22%, aproximadamente 19%, aproximadamente 14%, aproximadamente 32%, aproximadamente 17%, aproximadamente 26%, aproximadamente 5%, aproximadamente 12%, aproximadamente 13% aproximadamente 9%, aproximadamente 11% y aproximadamente 15% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de GM-CSF varía de aproximadamente 5% a aproximadamente 32%. En algunas realizaciones, ese % de GM-CSF es de aproximadamente 32% o menos.

[00350] En algunas realizaciones, el % de GM-CSF en presencia de 6,4 nM de anticuerpo de TF, como se establece en la **Tabla 11** de PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019 se selecciona a partir de aproximadamente 8%, aproximadamente 9%, aproximadamente 24%, aproximadamente 20%, aproximadamente 18%, aproximadamente 39%, aproximadamente 34%, aproximadamente 15%, aproximadamente 21%, aproximadamente 16%, aproximadamente 17% y aproximadamente 10% en comparación con las condiciones de control sin el anticuerpo. En algunas realizaciones, ese % de GM-CSF varía de aproximadamente 8% a aproximadamente 39%. En algunas realizaciones, ese % de GM-CSF es de aproximadamente 39% o menos.

2.4. Línea germinal

[00351] Los anticuerpos proporcionados en el presente documento pueden comprender cualquier secuencia de línea germinal V_H y V_L.

[00352] En algunas realizaciones, la región de V_H de un anticuerpo proporcionado en el presente documento pertenece a la línea germinal VH3. En algunas realizaciones, la región de V_H de un anticuerpo proporcionado en el presente documento pertenece a la línea germinal VH1. En algunas realizaciones, la región de V_H de un anticuerpo proporcionado en el presente documento pertenece a la línea germinal VH4.

[00353] En algunas realizaciones, la región de V_H de un anticuerpo proporcionado en el presente documento pertenece a la línea germinal VH3-23. En algunas realizaciones, la región de V_H de un anticuerpo proporcionado en el presente documento pertenece a la línea germinal VH1-18. En algunas realizaciones, la región de V_H de un anticuerpo proporcionado en el presente documento pertenece a la línea germinal VH3-30. En algunas realizaciones, la región de V_H de un anticuerpo proporcionado en el presente documento pertenece a la línea germinal VH1-69. En algunas realizaciones, la región de V_H de un anticuerpo proporcionado en el presente documento pertenece a la línea germinal VH4-31. En algunas realizaciones, la región de V_H de un anticuerpo proporcionado en el presente documento pertenece a la línea germinal VH4-34. En algunas realizaciones, la región de V_H de un anticuerpo proporcionado en el presente documento pertenece a la línea germinal VH1-46.

[00354] En algunas realizaciones, la región de V_L de un anticuerpo proporcionado en el presente documento pertenece a la línea germinal VK1. En algunas realizaciones, la región de V_L de un anticuerpo proporcionado en el presente documento pertenece a la línea germinal VK4. En algunas realizaciones, la región de V_L de un anticuerpo proporcionado en el presente documento pertenece a la línea germinal VK3

[00355] En algunas realizaciones, la región de V_L de un anticuerpo proporcionado en el presente documento pertenece a la línea germinal VK1-05. En algunas realizaciones, la región de V_L de un anticuerpo proporcionado en el

presente documento pertenece a la línea germinal VK4-01. En algunas realizaciones, la región de V_L de un anticuerpo proporcionado en el presente documento pertenece a la línea germinal VK3-15. En algunas realizaciones, la región de V_L de un anticuerpo proporcionado en el presente documento pertenece a la línea germinal VK3-20. En algunas realizaciones, la región de V_L de un anticuerpo proporcionado en el presente documento pertenece a la línea germinal VK1-33.

2.5. Anticuerpos de TF monoespecíficos y multiespecíficos

[00356] En algunas realizaciones, los anticuerpos proporcionados en el presente documento son anticuerpos monoespecíficos.

[00357] En algunas realizaciones, los anticuerpos proporcionados en el presente documento son anticuerpos multiespecíficos.

[00358] En algunas realizaciones, un anticuerpo multiespecífico proporcionado en el presente documento une a más de un antígeno. En algunas realizaciones, un anticuerpo multiespecífico une dos antígenos. En algunas realizaciones, un anticuerpo multiespecífico une tres antígenos. En algunas realizaciones, un anticuerpo multiespecífico une cuatro antígenos. En algunas realizaciones, un anticuerpo multiespecífico une cinco antígenos.

[00359] En algunas realizaciones, un anticuerpo multiespecífico proporcionado en el presente documento une a más de un epítopo en un antígeno de TF. En algunas realizaciones, un anticuerpo multiespecífico une dos epítopos en un antígeno de TF. En algunas realizaciones, un anticuerpo multiespecífico une tres epítopos en un antígeno de TF.

[00360] Muchas construcciones de anticuerpo multiespecíficos se conocen en la materia y los anticuerpos proporcionados en el presente documento pueden presentarse en forma de cualquier construcción adecuada de multiespecífico adecuado.

[00361] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende una inmunoglobulina que comprende al menos dos regiones variables de cadena pesada diferentes cada una emparejada con una región variable de cadena

ligera común (*es decir,* “un anticuerpo de cadena ligera común”). La región variable de cadena ligera común forma un dominio de unión a antígeno distinto con cada una de las dos diferentes regiones variables de cadena pesada. *Ver* Merchant *et al.*, *Nature Biotechnol.*, 1998, 16:677-681, incorporada como referencia en su totalidad.

[00362] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico que comprende una inmunoglobulina que comprende un anticuerpo o fragmento de este adjunto en el presente a uno o más de los N-terminales y C-terminales de las cadena pesada o ligera de esa inmunoglobulina. *Ver* Coloma y Morrison, *Nature Biotechnol.*, 1997, 15:159-163, incorporada como referencia en su totalidad. En algunos aspectos, ese anticuerpo comprende un anticuerpo biespecífico tetravalente.

[00363] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende una inmunoglobulina híbrida que comprende al menos dos regiones variables de cadena pesada diferentes cada una y al menos dos regiones variables de cadena ligera diferentes. *Ver* Milstein y Cuello, *Nature*, 1983, 305:537-540; y Staerz y Bevan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, 83:1453-1457; cada una de las cuales se incorpora como referencia en su totalidad.

[00364] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende cadenas de inmunoglobulina con alteraciones para reducir la formación de productos secundarios que no tienen multiespecificidad. En algunos aspectos, los anticuerpos comprenden una o más modificaciones de “perillas en agujeros” como se describe en la Patente de los EE. UU. n.º 5,731,168, y se incorporan como referencia en su totalidad.

[00365] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende cadenas de inmunoglobulina con una o más modificaciones electrostáticas para promover el ensamblaje de heteromultímeros Fc. *Ver* WO 2009/089004, que se incorpora como referencia en su totalidad.

[00366] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende una molécula de cadena sencilla biespecífica. *Ver* Traunecker *et al.*, *EMBO J.*, 1991,

10:3655-3659; y Gruber *et al.*, *J. Immunol.*, 1994, 152:5368-5374; cada una de las cuales se incorpora como referencia en su totalidad.

[00367] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera conectada por un conector de polipéptidos, donde la longitud del conector se selecciona para promover el ensamblaje de anticuerpos multiespecíficos con la multiespecificidad deseada. Por ejemplo, los fragmentos Fv monocatenarios monoespecíficos (scFv) en general se forman cuando un dominio variable de cadena pesada y un dominio variable de cadena ligera están conectados por un conector de polipéptidos de más de 12 residuos de aminoácidos. *Ver* la Patente de los EE. UU. n.º 4,946,778 y 5,132,405, cada una de las cuales se incorpora como referencia en su totalidad. En algunas realizaciones, la reducción de la longitud del conector de polipéptidos a menos de 12 residuos de aminoácidos previene el emparejamiento de los dominios variables de cadena pesada y ligera, de ese modo, se permite el emparejamiento de los dominios variables de cadena pesada y ligera a partir de una cadena con los dominios complementarios en otra cadena. Por lo tanto, los anticuerpos resultantes tienen multiespecificidad con la especificidad de cada sitio de unión que contribuyó mediante más de una cadena de polipéptidos. Las cadenas de polipéptidos que comprenden dominios variables de cadena pesada y ligera que están unidos por conectores entre los residuos de aminoácidos 3 y 12 forman predominantemente dímeros (denominados diacuerpos). Con los conectores entre residuos de aminoácidos 0 y 2, se favorecen los trímeros (denominados triacuerpos) y tetrámeros (denominados tetracuerpos). Sin embargo, el tipo exacto de oligomerización parece depender de la composición del residuo de aminoácidos y del orden del dominio variable en cada cadena de polipéptidos (*p. ej.*, conector V_H y V_L frente a conector V_L y V_H) además de la longitud del conector. Un experto puede seleccionar la longitud adecuada del conector según la multiespecificidad deseada.

[00368] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende un diacuerpo. *Ver* Hollinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90:6444-6448, incorporada como referencia en su totalidad. En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende un triacuerpo. *Ver* Todorovska *et al.*, *J. Immunol. Methods*, 2001, 248:47-66, incorporada como referencia en su totalidad. En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende un tetracuerpo. *Ver id.*, incorporada como referencia en su totalidad.

[00369] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende un derivativo F(ab)'3 triespecífico. *Ver* Tutt *et al. J. Immunol.*, 1991, 147:60-69, incorporada como referencia en su totalidad.

[00370] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende un anticuerpo entrecruzado. *Ver* Patente de los EE. UU. n.º 4,676,980; Brennan *et al.*, *Science*, 1985, 229:81-83; Staerz, *et al. Nature*, 1985, 314:628-631; y EP 0453082; cada una de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad.

[00371] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende dominios de unión a antígeno ensamblado por cremallera de leucina. *Ver* Kostelny *et al.*, *J. Immunol.*, 1992, 148:1547-1553, incorporada como referencia en su totalidad.

[00372] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende dominios de proteína complementarios. En algunos aspectos, los dominios complementarios de proteína comprenden un dominio de anclaje (AD) y un dominio de dimerización y acoplamiento (DDD). En algunas realizaciones, el AD y DDD se unen entre sí y, de este modo, permiten el ensamblaje de estructuras de anticuerpo multiespecífico a través del método anticuerpo dock-and-lock (DNL). Los anticuerpos de varias especificidades pueden estar ensamblados, incluidos los anticuerpos biespecíficos, los anticuerpos triespecíficos, los anticuerpos tetraespecíficos, los anticuerpos pentaespecíficos y los anticuerpos hexaespecíficos. Se describen los anticuerpos multiespecíficos que comprenden dominios de proteínas complementarios, por ejemplo, en la Patente de los

EE. UU. n.º 7,521,056; 7,550,143; 7,534,866; y 7,527,787; cada una de las cuales se incorpora como referencia en su totalidad.

[00373] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende un anticuerpo Fab (fragmento de unión a antígeno) de acción dual (DAF) como se describe en la Pat. Púb. de los EE. UU. n.º 2008/0069820, y se incorporan como referencia en su totalidad.

[00374] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende un anticuerpo formado mediante reducción de dos moléculas parentales y luego se mezclan de dos moléculas parentales y reoxidación para ensamblar una estructura híbrida. *Ver* Carlring *et al.*, *PLoS One*, 2011, 6:e22533, incorporada como referencia en su totalidad.

[00375] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende una DVD-Ig™. Una DVD-Ig™ es una inmunoglobulina de dominio variable dual que puede unirse a dos o más antígenos. Las DVD-Ig™ se describen en la Patente de los EE. UU. n.º 7,612,181, y se incorporan como referencia en su totalidad.

[00376] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende un DART™. Los DART™ se describen en Moore *et al.*, *Blood*, 2011, 117:454-451, incorporada como referencia en su totalidad.

[00377] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende un DuoBody®. Los DuoBodies® se describen en Labrijn *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU.*, 2013, 110:5145-5150; Gramer *et al.*, *mAbs*, 2013, 5:962-972; y Labrijn *et al.*, *Nature Protocols*, 2014, 9:2450-2463; cada una de las cuales se incorpora como referencia en su totalidad.

[00378] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende un fragmento de anticuerpo adjunto a otro anticuerpo o fragmento. El adjunto puede ser covalente o no covalente. Cuando el adjunto es covalente, puede ser en forma de una proteína de fusión o a través de un conector químico. Los ejemplos ilustrativos de anticuerpos multiespecíficos comprenden fragmentos de anticuerpo adjuntos a otros anticuerpos incluyen anticuerpos biespecíficos tetravalentes, donde un scFV se fusiona al C-terminal del C_{H3} de una IgG. *Ver*

Coloma y Morrison, *Nature Biotechnol.*, 1997, 15:159-163. Otros ejemplos incluyen anticuerpos en los que una molécula Fab se adjunta a la región constante de una inmunoglobulina. *Ver* Miler *et al.*, *J. Immunol.*, 2003, 170:4854-4861, incorporada como referencia en su totalidad. Se puede utilizar cualquier fragmento adecuado, incluidos los fragmentos descritos en el presente documento o reconocidos en la materia.

[00379] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende un CovX-Body. Los CovX-Bodies se describen, por ejemplo, en Doppalapudi *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, 107:22611-22616, incorporada como referencia en su totalidad.

[00380] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende un anticuerpo Fcab, donde un dominio de unión a antígeno o más se introducen en una región Fc. Los anticuerpos Fcab se describen en Wozniak-Knopp *et al.*, *Protein Eng. Des. Sel.*, 2010, 23:289-297, incorporada como referencia en su totalidad.

[00381] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende un anticuerpo TandAb®. Los anticuerpos TandAb® se describen en Kipriyanov *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 1999, 293:41-56 y Zhukovsky *et al.*, *Blood*, 2013, 122:5116, cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad.

[00382] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende un Fab en tándem. Los Fabs en tándem se describen en el documento WO 2015/103072, incorporado como referencia en su totalidad.

[00383] En algunas realizaciones, el anticuerpo multiespecífico comprende un Zybody™. Los Zybodies™ se describen en LaFleur *et al.*, *mAbs*, 2013, 5:208-218, incorporados como referencia en su totalidad.

2.6. Variantes de glicosilación

[00384] En determinadas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento puede alterarse para aumentar, disminuir o eliminar el grado en que está glicosilado. La glicosilación de polipéptidos está típicamente “unida a N” o “unida a O”.

[00385] La glicosilación “unida a N” hace referencia a la unión de una porción de carbohidrato a la cadena lateral de un residuo de asparagina. Las secuencias de tripéptidos asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina, donde X es cualquier aminoácido excepto prolina, son las secuencias de reconocimiento para la unión enzimática de la porción de carbohidrato a la cadena lateral de asparagina. De esta manera, la presencia de cualquiera de estas secuencias de tripéptidos en un polipéptido crea un sitio de glicosilación potencial.

[00386] La glicosilación “unida a O” se refiere a la unión de uno de los azúcares N-acetilgalactosamina, galactosa o xilosa a un ácido hidroxiamino, más frecuentemente serina o treonina, aunque también se puede usar 5-hidroxiprolina o 5-hidroxilisina.

[00387] La adición o deleción de sitios de glicosilación unidos a N hacia o desde un anticuerpo proporcionado en el presente documento se puede lograr alterando la secuencia de aminoácidos, de modo que se cree o elimine una o más de las secuencias de tripéptidos descritas anteriormente. La adición o deleción de sitios de glicosilación unidos a O se puede lograr mediante la adición, eliminación o sustitución de uno o más residuos de serina o treonina en o para (o según sea el caso) la secuencia de un anticuerpo.

[00388] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento comprende un motivo de glicosilación que es diferente de un anticuerpo de origen natural. Cualquier motivo de glicosilación de origen natural adecuado puede modificarse en los anticuerpos proporcionados en el presente documento. Las propiedades estructurales y de glicosilación de las inmunoglobulinas, por ejemplo, se conocen en la técnica y se resumen, por ejemplo, en Schroeder y Cavacini, *J. Allergy Clin*. *Immunol.*, 2010, 125:S41-52, cuyo contenido completo se incorpora como referencia en el presente documento.

[00389] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento comprende una región Fc de IgG1 con modificación al oligosacárido unido a la asparagina 297 (Asn 297). Los anticuerpos IgG1 de origen natural

producidos por células de mamíferos comprenden típicamente un oligosacárido bicatenario ramificado que suele estar unido por un enlace N a Asn 297 del dominio C_{H2} de la región Fc. *Ver* Wright *et al.*, *TIBTECH*, 1997, 15:26-32, incorporado como referencia en su totalidad. El oligosacárido unido al Asn 297 puede incluir varios carbohidratos como manosa, N-acetil glucosamina (GlcNAc), galactosa y ácido siálico, así como una fucosa unida a un GlcNAc en el "tallo" de la estructura del oligosacárido bicatenario.

[00390] En algunas realizaciones, el oligosacárido unido a Asn 297 se modifica para crear anticuerpos que poseen ADCC alterada. En algunas realizaciones, el oligosacárido se altera para mejorar la ADCC. En algunas realizaciones, el oligosacárido se altera para reducir la ADCC.

[00391] En algunos aspectos, un anticuerpo proporcionado en el presente documento comprende un dominio IgG1 con un contenido reducido de fucosa en la posición Asn 297 en comparación con un dominio IgG1 que se genera naturalmente. Se sabe que dichos dominios Fc tienen un ADCC mejorado. *Ver* Shields *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 2002, 277:26733-26740, incorporado como referencia en su totalidad. En algunos aspectos, dichos anticuerpos no comprenden ninguna fucosa en la posición Asn 297. La cantidad de fucosa puede determinarse usando cualquier método apto, p. ej., tal como se describe en WO 2008/077546, incorporada como referencia en la presente en su totalidad.

[00392] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento comprende un oligosacárido dividido, tal como un oligosacárido bicatenario unido a la región Fc del anticuerpo que está dividido por GlcNAc. Dichas variantes de anticuerpos pueden tener una fucosilación reducida y/o una función de ADCC mejorada. Se describen ejemplos de tales variantes de anticuerpos, por ejemplo, en el documento WO 2003/011878; patente de los EE. UU. n.º 6,602,684; y Pat. Púb. Internac. n.° 2005/0123546; cada una de las cuales se incorpora como referencia en su totalidad.

[00393] Otras variantes ilustrativas de la glicosilación que pueden ser incorporadas en los anticuerpos que se proporcionan en el presente documento

se describen en, por ejemplo, la Pat. Púb. Internac. n.° 2003/0157108, 2004/0093621, 2003/0157108, 2003/0115614, 2002/0164328, 2004/0093621, 2004/0132140, 2004/0110704, 2004/0110282, 2004/0109865; Pat. Internac. n.° 2000/61739, 2001/29246, 2003/085119, 2003/084570, 2005/035586, 2005/035778; 2005/053742, 2002/031140; Okazaki *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 2004, 336:1239-1249; y Yamane-Ohnuki *et al.*, *Biotech*. *Bioeng.*, 2004, 87: 614-622; cada una de las cuales se incorpora como referencia en su totalidad.

[00394] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento comprende una región Fc con por lo menos un residuo de galactosa en el oligosacárido, anexado a la región Fc. Dichas variantes de anticuerpo pueden tener una función CDC mejorada. Los ejemplos de dichas variantes de anticuerpos se describen en, por ejemplo, en el documento WO 1997/30087; WO 1998/58964; y WO 1999/22764; cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad.

[00395] Los ejemplos de líneas celulares capaces de producir anticuerpos defucosilados incluyen las células CHO Lec13, que son deficientes en la fucosilación de proteínas (*Ver* Ripka *et al.*, *Arch*. *Biochem. Biophys.*, 1986, 249:533-545; Pat. Púb. Internac. n.° 2003/0157108; WO 2004/056312; cada una de las cuales se incorpora como referencia en su totalidad), y estirpes celulares con desactivación, tales como el gen alfa-1,6-fucosiltransferasa o las células CHO con desactivación de FUT8 (*ver* Yamane-Ohnuki *et al*., *Biotech*. *Bioeng.*, 2004, 87: 614-622; Kanda *et al*., *Biotechnol*. *Bioeng.*, 2006, 94:680-688; y WO 2003/085107; cada una de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad).

[00396] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento es un anticuerpo aglicosilado. Se puede producir un anticuerpo aglicosilado usando cualquier método conocido en la técnica o descrito en el presente documento. En algunos aspectos, se produce un anticuerpo aglicosilado modificando el anticuerpo para eliminar todos los sitios de glicosilación. En algunos aspectos, los sitios de glicosilación se eliminan

únicamente de la región Fc del anticuerpo. En algunos aspectos, un anticuerpo aglicosilado se produce al expresar el anticuerpo en un organismo que no es capaz de glicosilar, como *E. coli*, o al expresar el anticuerpo en una mezcla de reacción sin células.

[00397] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene una región constante con una función efectora reducida en comparación con un anticuerpo IgG1 nativo. En algunas realizaciones, la afinidad de una región constante en una región Fc de un anticuerpo proporcionado en el presente documento para el receptor Fc es menor que la afinidad de una región constante de IgG1 nativa para dicho receptor Fc.

2.7. Regiones constantes, región Fc y variantes de la secuencia de aminoácidos

[00398] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento comprende una o más regiones constantes.

[00399] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende un dominio constante de Ig humano. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región constante de un anticuerpo IgA, IgG, IgE, IgD o IgM humano. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región constante de IgG humano. El IgG humano puede ser IgG1 humano, IgG2 humano, IgG3 humano o IgG4 humano.

[00400] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende un dominio CH1 del IgG1 humano. En algunas realizaciones, la secuencia del dominio CH1 del IgG1 humano es la siguiente: ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV.

[00401] En algunas realizaciones, el dominio CH1 del IgG1 humano es de un alotipo particular. Los alotipos de IgG1 humanos adecuados para cualquiera de los anticuerpos descritos en el presente documento se describen en http://www.imgt.org/IMGTrepertoire/Proteins/allotypes/human/IGH/IGHC/G1m_ allotypes.html, lo cual se incorpora en el presente documento como referencia

en su totalidad. En realizaciones particulares, el alotipo es G1m3, también denominado en el presente documento como IGHG1*03. El G1m3, también conocido como alotipo IGHG1*03, se describe en http://www.imgt.org/IMGTrepertoire/Proteins/allotypes/human/IGH/IGHC/G1m_allotypes.html, lo cual se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad.

[00402] En algunas realizaciones, la región CH1 del IgG1 humano del alotipo IGHG1*03 comprende la secuencia del dominio CH1 ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV.

[00403] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento comprende una región Fc. La región Fc puede ser de un anticuerpo IgA, IgG, IgE, IgD o IgM humano.

[00404] En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región Fc del IgG humano. La región Fc del IgG humano puede ser una región Fc del IgG1 humano, región Fc del IgG2 humano, región Fc del IgG3 humano, o región Fc del IgG4 humano.

[00405] En realizaciones particulares, el anticuerpo comprende una región Fc del IgG1 humano. La región Fc del IgG1 humano puede comprender una secuencia de articulación. En algunas realizaciones, la secuencia de articulación es EPKSCDKTHTCP.

[00406] La región Fc del IgG1 humano puede comprender una secuencia del dominio CH2 del IgG1 humano. En algunas realizaciones, la secuencia del dominio CH2 del IgG1 humano es la siguiente: PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK.

[00407] La región Fc del IgG1 humano puede comprender una secuencia del dominio CH3 del IgG1 humano. La secuencia del dominio CH3 del IgG1 humano es la siguiente:

GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
PG. En algunas realizaciones, la secuencia del dominio CH3 del IgG1 humano comprende, además, una lisina C-terminal (K).

[00408] En algunas realizaciones, la región Fc del IgG1 humano comprende la siguiente secuencia:
PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD
GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI
EKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
PG. En algunas realizaciones, la secuencia de la región Fc del IgG1 humano comprende, además, una lisina C-terminal (K).

[00409] En algunas realizaciones, la región Fc del IgG1 humano comprende la siguiente secuencia:
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH
EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY
KCKVSNKALPAPIEKTISKAK
GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS
PG. En algunas realizaciones, la secuencia de la región Fc del IgG1 humano comprende, además, una lisina C-terminal (K).

[00410] En algunas realizaciones, la región Fc del IgG1 humano es de un alotipo particular. Los alotipos de IgG1 humanos adecuados para cualquiera de los anticuerpos descritos en el presente documento se describen en http://www.imgt.org/IMGTrepertoire/Proteins/allotypes/human/IGH/IGHC/G1m_allotypes.html, lo cual se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad. En realizaciones particulares, el alotipo es G1m3, también denominado en el presente documento como IGHG1*03. El G1m3, también conocido como alotipo IGHG1*03, se describe en

http://www.imgt.org/IMGTrepertoire/Proteins/allotypes/human/IGH/IGHC/G1m_allotypes.html, lo cual se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad.

[00411] En algunas realizaciones, la región Fc del IgG1 humano del alotipo IGHG1*03 comprende la siguiente secuencia de CH2: PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK.

[00412] En algunas realizaciones, la región Fc del IgG1 humano del alotipo IGHG1*03 comprende la siguiente secuencia de CH3: GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG. En algunas realizaciones, la región CH3 de la región Fc del IgG1 humano del alotipo IGHG1*03 comprende, además, una lisina C-terminal (K).

[00413] En algunas realizaciones, la región Fc del IgG1 humano del alotipo IGHG1*03 comprende la siguiente secuencia de Fc: PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG. En algunas realizaciones, la secuencia de la región Fc del IgG1 humano del alotipo IGHG1*03 comprende, además, una lisina C-terminal (K).

[00414] En algunas realizaciones, la región Fc del IgG1 humano del alotipo IGHG1*03 comprende la siguiente secuencia de Fc: EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG. En algunas realizaciones, la secuencia de la

región Fc del IgG1 humano del alotipo IGHG1*03 comprende, además, una lisina C-terminal (K).

[00415] En determinadas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento comprende una región Fc con una o más sustituciones, inserciones o deleciones de aminoácidos en comparación con una región Fc de origen natural. En algunos aspectos, tales sustituciones, inserciones o deleciones producen anticuerpos con estabilidad alterada, glicosilación u otras características. En algunos aspectos, tales sustituciones, inserciones o deleciones producen anticuerpos aglicosilados.

[00416] En algunos aspectos, la región Fc de un anticuerpo proporcionado en el presente documento se modifica para producir un anticuerpo con afinidad alterada para un receptor Fc, o un anticuerpo que sea más inerte a nivel inmunológico. En algunas realizaciones, las variantes de anticuerpos proporcionadas en el presente documento poseen algunas funciones efectoras, pero no todas. Dichos anticuerpos pueden ser útiles, por ejemplo, cuando la semivida del anticuerpo es importante *in vivo*, pero para ciertas funciones efectoras (p. ej., activación del complemento y ADCC) son innecesarios o perjudiciales.

[00417] En algunas realizaciones, la región Fc de un anticuerpo proporcionado en el presente documento es una región Fc del IgG4 humano que comprende una o más de las mutaciones estabilizadoras de articulación S228P y L235E. *Ver* Aalberse *et al.*, *Immunology*, 2002, 105:9-19, incorporado como referencia en su totalidad. En algunas realizaciones, la región Fc del IgG4 comprende una o más de las siguientes mutaciones: E233P, F234V y L235A. *Ver* Armour *et al.*, *Mol. Immunol*., 2003, 40:585-593, incorporado como referencia en su totalidad. En algunas realizaciones, la región Fc del IgG4 comprende una deleción en la posición G236.

[00418] En algunas realizaciones, la región Fc de un anticuerpo proporcionado en el presente documento es una región Fc del IgG1 humano que comprende una o más mutaciones para reducir la unión al receptor Fc. En algunos aspectos,

una o más mutaciones se encuentran en residuos seleccionados de S228 (p. ej., S228A), L234 (p. ej., L234A), L235 (p. ej., L235A), D265 (p. ej., D265A) y N297 (p. ej., N297A). En algunos aspectos, el anticuerpo comprende una mutación PVA236. PVA236 significa que la secuencia de aminoácidos ELLG, desde la posición de aminoácidos 233 a 236 del IgG1 o EFLG del IgG4, se reemplaza por PVA. *Ver* la Patente de los EE. UU. n.º 9,150,641, y se incorporan como referencia en su totalidad.

[00419] En algunas realizaciones, la región Fc de un anticuerpo proporcionado en el presente documento se modifica como se describe en Armor *et al.*, *Eur. J. Immunol*., 1999, 29:2613-2624; WO 1999/058572; y/o la Solic. de Patente del Reino Unido n.° 98099518; cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad.

[00420] En algunas realizaciones, la región Fc de un anticuerpo proporcionado en el presente documento es una región Fc del IgG2 humano que comprende una o más de las mutaciones A330S y P331S.

[00421] En algunas realizaciones, la región Fc de un anticuerpo proporcionado en el presente documento tiene una sustitución de aminoácidos en una o más posiciones seleccionadas de 238, 265, 269, 270, 297, 327 y 329. *Ver* la Patente de los EE. UU. n.º 6,737,056, y se incorporan como referencia en su totalidad. Dichos mutantes de Fc incluyen mutantes de Fc con sustituciones en dos o más de las posiciones de aminoácidos 265, 269, 270, 297 y 327, incluido el mutante de Fc conocido como “DANA” con sustitución de los residuos 265 y 297 con alanina. *Ver* la Patente de los EE. UU. n.º 7,332,581, y se incorporan como referencia en su totalidad. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una alanina en la posición de aminoácido 265. En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una alanina en la posición de aminoácido 297.

[00422] En ciertas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento comprende una región Fc con una o más sustituciones de aminoácidos que mejoran ADCC, tal como una sustitución en una o más posiciones 298, 333 y 334 de la región Fc. En algunas realizaciones, un

anticuerpo proporcionado en el presente documento comprende una región Fc con una o más sustituciones de aminoácidos en las posiciones 239, 332 y 330, tal como se describe en Lazar *et al.*, *Proc*. *Natl. Acad. Sci. USA*, 2006,103:4005-4010, incorporado como referencia en su totalidad.

[00423] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento comprende una o más alteraciones que mejoran o disminuyen la unión C1q y/o CDC. *Ver* la Patente de los EE. UU. n.° 6,194,551; WO 99/51642; e Idusogie *et al*., *J. Immunol.*, 2000, 164:4178-4184; cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad.

[00424] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento comprende una o más alteraciones para aumentar la semivida. Los anticuerpos con semividas aumentadas y unión mejorada al receptor Fc neonatal (FcRn) se describen, por ejemplo, en Hinton *et al.*, *J. Immunol.*, 2006, 176:346-356; y Pat. Púb. Internac. n.° 2005/0014934; cada una de las cuales se incorpora como referencia en su totalidad. Dichas variantes de Fc incluyen aquellas con sustituciones en uno o más de los residuos de la región Fc: 238, 250, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 314, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424, 428 y 434 de un IgG.

[00425] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento comprende una o más variantes de la región Fc como se describe en las Patentes de los EE. UU. n.° 7,371,826, 5,648,260, y 5,624,821; Duncan and Winter, *Nature*, 1988, 322:738-740; y WO 94/29351; cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad.

2.8. Piroglutamato

[00426] Como se sabe en la técnica, tanto el glutamato (E) como la glutamina (Q) en el N-terminal de las proteínas recombinantes pueden ciclarse espontáneamente para formar piroglutamato (pE) *in vitro* e *in vivo. Ver* Liu *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 2011, 286:11211-11217, incorporado como referencia en su totalidad.

[00427] En algunas realizaciones, en el presente documento, se proporcionan anticuerpos que comprenden una secuencia de polipéptidos que posee un residuo pE en la posición N-terminal. En algunas realizaciones, en el presente documento, se proporcionan anticuerpos que comprenden una secuencia de polipéptidos en la que el residuo N-terminal se ha convertido de Q a pE. En algunas realizaciones, en el presente documento, se proporcionan anticuerpos que comprenden una secuencia de polipéptidos en la que el residuo N-terminal se ha convertido de E a pE.

2.9. Variantes de anticuerpos diseñados por cisteína

[00428] En determinadas realizaciones, en el presente documento, se proporcionan anticuerpos diseñados con cisteína, también conocidos como "tioMAbs", en los que uno o más residuos del anticuerpo están sustituidos con residuos de cisteína. En realizaciones particulares, los residuos sustituidos se producen en sitios accesibles del solvente del anticuerpo. Al sustituir dichos residuos con cisteína, se introducen grupos tiol reactivos en sitios accesibles del solvente del anticuerpo y se pueden usar para conjugar el anticuerpo con otras porciones, tales como porciones del fármaco o porciones del fármaco conector, por ejemplo, para crear un inmunoconjugado.

[00429] En determinadas realizaciones, uno o más de los siguientes residuos pueden estar sustituidos con cisteína: V205 de la cadena ligera; A118 de la región Fc de la cadena pesada; y S400 de la región Fc de la cadena pesada. Los anticuerpos diseñados con cisteína pueden generarse como se describe, por ejemplo, en la Patente de los EE. UU. n.º 7,521,541, que se incorpora como referencia en su totalidad.

3. Conjugados de anticuerpos-fármacos anti-TF

[00430] En el presente documento, se proporcionan conjugados de anticuerpos-fármacos (ADC) que comprenden un anticuerpo que se une específicamente al TF y a un agente citotóxico. En determinadas realizaciones, el agente citotóxico está unido directamente al anticuerpo anti-TF. En determinadas realizaciones, el agente citotóxico está unido indirectamente al anticuerpo anti-TF.

[00431] En algunas realizaciones, los ADC también comprenden un enlazador. En algunas realizaciones, el conector une el anticuerpo anti-TF al agente citotóxico.

[00432] El número de agentes citotóxicos conjugados con un anticuerpo en un ADC se define como la relación fármaco-anticuerpo o DAR. Como se sabe en la técnica, la mayoría de los métodos de conjugación producen una composición de ADC que incluye varias especies de DAR, el cual se reporta como el promedio de las especies de DAR individuales. Por lo tanto, cuando en el presente documento se define que los ADC tienen un DAR específico, se debe entender que el número proporcionado representa el promedio de las especies de DAR individuales en la composición de ADC. En algunas realizaciones, los ADC proporcionados en el presente documento tienen una relación fármaco-anticuerpo (DAR) de 1. En algunas realizaciones, los ADC proporcionados en el presente documento tienen una DAR de 2. En algunas realizaciones, los ADC proporcionados en el presente documento tienen una DAR de 3. En algunas realizaciones, los ADC proporcionados en el presente documento tienen una DAR de 4. En algunas realizaciones, los ADC proporcionados en el presente documento tienen una DAR de 5. En algunas realizaciones, los ADC proporcionados en el presente documento tienen una DAR de 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 2-3, 2-4, 2-5, 3-4, 3-5, 4-5, 1, 2, 3, 4, o 5. En algunas realizaciones, los ADC proporcionados en el presente documento tienen una DAR mayor a 5. En algunas realizaciones, la DAR se mide a través de espectroscopía UV/vis, cromatografía de interacción hidrófoba (HIC) y/o separación mediante cromatografía líquida de fase inversa con detección de tiempo de vuelo y caracterización de masa (RP-UPLC/espectrometría de masas). En algunas realizaciones, la distribución de formas ligadas a fármacos (por ejemplo, la fracción de las especies DAR0, DAR1, DAR2, etc.) también puede analizarse mediante diversas técnicas conocidas en la técnica, incluida la MS (con o sin una etapa de separación cromatográfica complementaria), cromatografía de interacción hidrófoba, HPLC de fase inversa o electroforesis en gel con enfoque

isoeléctrico (IEF) (ver, por ejemplo, Sun *et al.,* Bioconj Chem., 28:1371-81 (2017); Wakankar *et al*., mAbs, 3:161-172 (2011)).

4. Métodos para crear anticuerpos TF

4.1. Preparación del antígeno TF

[00433] El antígeno TF usado para el aislamiento de los anticuerpos proporcionados en el presente documento puede ser el TF intacto o un fragmento del TF. El antígeno TF puede presentarse, por ejemplo, en forma de una proteína aislada o una proteína expresada en la superficie de una célula.

[00434] En algunas realizaciones, el antígeno TF es una variante de origen no natural de TF, tal como una proteína TF que tiene una secuencia de aminoácidos o una modificación postraduccional que no ocurre por naturaleza.

[00435] En algunas realizaciones, el antígeno TF se trunca mediante la eliminación de, por ejemplo, secuencias intracelulares o de membrana, o secuencias seña. En algunas realizaciones, el antígeno TF se fusiona en su C-terminal a un dominio Fc del IgG1 humano o una etiqueta de polihistidina.

4.2. Métodos para crear anticuerpos monoclonales

[00436] Los anticuerpos monoclonales pueden obtenerse, por ejemplo, usando el método de hibridoma descrito por primera vez por Kohler *et al., Nature,* 1975, 256:495-497 (incorporado como referencia en su totalidad), y/o por métodos de DNA recombinante (*Ver*, p. ej., Patente de los EE. UU. n.° 4,816,567, incorporada como referencia en su totalidad). Los anticuerpos monoclonales también pueden obtenerse, por ejemplo, mediante colecciones de presentación de fagos (*Ver*, p. ej., la Patente de los EE. UU. n.º 8,258,082, que se incorpora como referencia en su totalidad) o, alternativamente, mediante colecciones con base en levadura (*Ver*, p. ej., la Patente de los EE. UU. n.º 8,691,730, que se incorpora como referencia en su totalidad).

[00437] En el método de hibridoma, se inmuniza a un ratón u otro animal huésped apropiado para provocar linfocitos que producen o son capaces de producir anticuerpos que se unirán específicamente a la proteína utilizada para la inmunización. Alternativamente, los linfocitos pueden inmunizarse *in vitro*. Los

linfocitos se fusionan con células de mieloma usando un agente de fusión adecuado, como el polietilenglicol, para formar una célula de hibridoma. *Ver* Goding J.W., *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice* 3rd ed. (1986) Academic Press, San Diego, CA, que se incorpora como referencia en su totalidad.

[00438] Las células de hibridoma se siembran y crecen en un medio de cultivo adecuado que contiene una o más sustancias que inhiben la proliferación o la supervivencia de las células de mieloma parental no fusionadas. Por ejemplo, si las células de mieloma parental carecen de la enzima hipoxantina guanina fosforibosil transferasa (HGPRT o HPRT), el medio de cultivo para los hibridomas típicamente incluirá hipoxantina, aminopterina y timidina (medio HAT), cuyas sustancias previenen la proliferación de células con HGPRT deficiente.

[00439] Las células de mieloma útiles son aquellas que se fusionan eficientemente, respaldan la producción estable de anticuerpos de alto nivel mediante las células productoras de anticuerpos seleccionadas, y son condiciones de medios sensibles, como la presencia o ausencia del medio HAT. Entre estas, las estirpes celulares de mieloma preferidas son las estirpes de mieloma murino, como las que provienen de tumores de ratón MOP-21 y MC-11 (disponibles en el Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, CA), y células SP-2 o X63-Ag8-653 (disponibles en la American Type Culture Collection, Rockville, MD). Las estirpes celulares de mieloma humano y heteromieloma humano de ratón también se han descrito para la producción de anticuerpos monoclonales humanos. *Ver*, p. ej., Kozbor, *J. Immunol.*, 1984, 133:3001, incorporado como referencia en su totalidad.

[00440] Después de la identificación de las células de hibridoma que producen anticuerpos de la especificidad, afinidad y/o actividad biológica deseada, los clones seleccionados pueden subclonarse mediante procedimientos de dilución limitante y crecer a través de métodos estándares. *Ver* Goding, *supra*. Los medios de cultivo adecuados para esta finalidad incluyen, por ejemplo, el medio

D-MEM o RPMI-1640. Además, las células de hibridoma pueden crecer *in vivo* como tumores ascíticos en un animal.

[00441] El DNA que codifica los anticuerpos monoclonales puede aislarse y secuenciarse fácilmente mediante procedimientos convencionales (p. ej., con sondas de oligonucleótidos que son capaces de unirse específicamente a genes que codifican las cadenas pesadas y ligeras de los anticuerpos monoclonales). Por lo tanto, las células de hibridoma pueden servir como una fuente útil de DNA que codifica anticuerpos con las propiedades deseadas. Una vez aislado, el DNA puede colocarse en vectores de expresión que, luego, se transfectan en células hospedadoras, tales como bacterias (p. ej., *E. coli*), levaduras (p. ej., *Saccharomyces* o *Pichia sp.*), células COS, células de ovario de hámster chino (CHO), o células de mieloma que, de otro modo, no producen anticuerpos, para producir los anticuerpos monoclonales.

4.3. Métodos para crear anticuerpos quiméricos

[00442] Los métodos ilustrativos para crear anticuerpos quiméricos se describen, por ejemplo, en la Patente de los EE. UU. n.° 4,816,567; y Morrison *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1984, 81:6851-6855; cada una de las cuales se incorpora como referencia en su totalidad. En algunas realizaciones, se crea un anticuerpo quimérico mediante técnicas recombinantes para combinar una región variable no humana (p. ej., una región variable derivada de un ratón, rata, hámster, conejo o primate no humano, como un mono) con una región humana constante.

4.4. Métodos para crear anticuerpos humanizados

[00443] Los anticuerpos humanizados pueden generarse reemplazando la mayoría, o la totalidad, de las porciones estructurales de un anticuerpo monoclonal no humano por las secuencias de anticuerpos humanos correspondientes. Por consiguiente, se genera una molécula híbrida en la que solo la variable específica del antígeno, o la CDR, se compone de una secuencia no humana. Los métodos para obtener anticuerpos humanizados incluyen los que se describen en, por ejemplo, Winter and Milstein, *Nature*, 1991, 349:293-

299; Rader *et al.*, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 1998, 95:8910-8915; Steinberger *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 2000, 275:36073-36078; Queen *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1989, 86:10029-10033; y las Patentes de los EE. UU. n.° 5,585,089, 5,693,761, 5,693,762, y 6,180,370; cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad.

4.5. Métodos para crear anticuerpos humanos

[00444] Los anticuerpos humanos pueden generarse a través de una variedad de técnicas conocidas en la técnica, por ejemplo, con animales transgénicos (p. ej., como ratones humanizados). *Ver*, p. ej., Jakobovits *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*., 1993, 90:2551; Jakobovits *et al.*, *Nature*, 1993, 362:255-258; Bruggermann *et al.*, *Year in Immuno.*, 1993, 7:33; y las Patentes de los EE. UU. n.° 5,591,669, 5,589,369 y 5,545,807; cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad. Los anticuerpos humanos también pueden derivarse de colecciones de presentación de fagos (*ver*, p. ej., Hoogenboom *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 1991, 227:381-388; Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 1991, 222:581-597; y Patentes de los EE. UU. n.° 5,565,332 y 5,573,905; cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad). Los anticuerpos humanos también pueden generarse a través de células B activadas *in vitro* (*Ver*, p. ej., las Patentes de los EE. UU. n.° 5,567,610 y 5,229,275, cada una de las cuales se incorpora como referencia en su totalidad). Los anticuerpos humanos también pueden derivarse de colecciones con base en levaduras (*Ver*, p. ej., la Patente de los EE. UU. n.º 8,691,730, incorporada como referencia en su totalidad).

4.6. Métodos para crear fragmentos de anticuerpos

[00445] Los fragmentos de anticuerpos proporcionados en el presente documento pueden crearse a través de cualquier método adecuado, incluidos los métodos ilustrativos descritos en el presente documento o los que se conocen en la técnica. Los métodos adecuados incluyen técnicas recombinantes y digestión proteolítica de anticuerpos completos. Se describen métodos ilustrativos para crear fragmentos de anticuerpos, por ejemplo, en Hudson *et al.*, *Nat. Med.*, 2003, 9:129-134, incorporado como referencia en su totalidad. Los

métodos para fabricar anticuerpos scFv se describen, por ejemplo, en Plückthun, in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994); WO 93/16185; y las Patentes de los EE. UU. n.° 5,571,894 y 5,587,458, cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad.

4.7. Métodos para crear andamiajes alternativos

[00446] Los andamiajes alternativos proporcionados en el presente documento pueden crearse a través de cualquier método adecuado, incluidos los métodos ilustrativos descritos en el presente documento o los que se conocen en la técnica. Por ejemplo, los métodos de preparación de Adnectins™ se describen en Emanuel *et al.*, *mAbs*, 2011, 3:38-48, incorporado como referencia en su totalidad. Los métodos de preparación de iMabs se describen, p. ej., en la Pat. Púb. Internac. n.º 2003/0215914, y se incorporan como referencia en su totalidad. Los métodos de preparación de Anticalins® se describen en Vogt and Skerra, *Chem. Biochem.*, 2004, 5:191-199, incorporado como referencia en su totalidad. Los métodos de preparación de dominios Kunitz se describen en Wagner *et al.*, *Biochem. & Biophys. Res. Comm.*, 1992, 186:118-1145, incorporado como referencia en su totalidad. Los métodos de preparación de aptámeros de péptidos de tiorredoxina se indican en Geyer and Brent, *Meth. Enzymol.*, 2000, 328:171-208, incorporado como referencia en su totalidad. Los métodos de preparación de Affibodies se indican en Fernández, *Curr. Opinion in Biotech.*, 2004, 15:364-373, incorporado como referencia en su totalidad. Los métodos de preparación de DARPins se indican en Zahnd *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 2007, 369:1015-1028, incorporado como referencia en su totalidad. Los métodos de preparación de afilinas se indican en Ebersbach *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 2007, 372:172-185, incorporado como referencia en su totalidad. Los métodos de preparación de tetranectinas se indican en Graversen *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 2000, 275:37390-37396, incorporado como referencia en su totalidad. Los métodos de preparación de avímeros se indican en Silverman *et al.*, *Nature Biotech.*, 2005, 23:1556-1561, incorporado como referencia en su totalidad. Los métodos de

preparación de Fynomers se indican en Silacci *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 2014, 289:14392-14398, incorporado como referencia en su totalidad.

[00447] Se facilita más información sobre andamiajes alternativos en Binz *et al.*, *Nat. Biotechnol.*, 2005 23:1257-1268 y Skerra, *Current Opin. in Biotech.*, 2007 18:295-304, cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad.

4.8. Métodos para crear anticuerpos multiespecíficos

[00448] Los anticuerpos multiespecíficos proporcionados en el presente documento pueden crearse a través de cualquier método adecuado, incluidos los métodos ilustrativos descritos en el presente documento o los que se conocen en la técnica. Los métodos para crear anticuerpos de cadena ligera comunes se describen en Merchant *et al.*, *Nature Biotechnol.*, 1998, 16:677-681, incorporado como referencia en su totalidad. Los métodos para crear anticuerpos biespecíficos tetravalentes se describen en Coloma and Morrison, *Nature Biotechnol.*, 1997, 15:159-163, incorporados como referencia en su totalidad. Los métodos para crear inmunoglobulinas híbridas se describen en Milstein and Cuello, *Nature*, 1983, 305:537-540; y Staerz and Bevan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986, 83:1453-1457; cada una de las cuales se incorpora como referencia en su totalidad. Los métodos para crear inmunoglobulinas con modificación de “perillas en orificios” se describen en la Patente de los EE. UU. n.º 5,731,168, y se incorporan como referencia en su totalidad. Los métodos para crear inmunoglobulinas con modificaciones electrostáticas se indican en el documento WO 2009/089004, incorporado como referencia en su totalidad. Los métodos para crear anticuerpos biespecíficos de cadena simple se describen en Traunecker *et al.*, *EMBO J.*, 1991, 10:3655-3659; y Gruber *et al.*, *J. Immunol.*, 1994, 152:5368-5374, cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad. Los métodos para fabricar anticuerpos de cadena simple, cuya longitud del conector puede variar, se describen en las Patentes de los EE. UU. n.º 4,946,778 y 5,132,405, cada una de las cuales se incorpora como referencia en su totalidad. Los métodos para crear diacuerpos se describen en Hollinger *et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90:6444-6448, incorporada como

referencia en su totalidad. Los métodos para crear triacuerpos y tetracuerpos se describen en Todorovska *et al.*, *J. Immunol. Methods*, 2001, 248:47-66, incorporada como referencia en su totalidad. Los métodos para crear derivados triespecíficos de F(ab')3 se describen en Tutt *et al. J. Immunol.*, 1991, 147:60-69, incorporada como referencia en su totalidad. Los métodos para crear anticuerpos reticulados se describen en la Patente de los EE. UU. n.º 4,676,980; Brennan *et al.*, *Science*, 1985, 229:81-83; Staerz, *et al. Nature*, 1985, 314:628-631; y EP 0453082; cada una de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad. Los métodos para crear dominios de unión a antígeno ensamblados por cierres de leucina se describen en Kostelny *et al.*, *J. Immunol.*, 1992, 148:1547-1553, incorporados como referencia en su totalidad. Los métodos para crear anticuerpos mediante el enfoque DNL se describen en las Patentes de los EE. UU. n.º 7,521,056; 7,550,143; 7,534,866; y 7,527,787; cada una de las cuales se incorpora como referencia en su totalidad. Los métodos para crear híbridos de moléculas de anticuerpos y moléculas que no son de anticuerpos se describen en el documento WO 93/08829, incorporado como referencia en su totalidad, para ejemplos de dichos anticuerpos. Los métodos para crear anticuerpos de DAF se describen en la Pat. Púb. Internac. n.º 2008/0069820, y se incorporan como referencia en su totalidad. Los métodos para crear anticuerpos mediante reducción y oxidación se describen en Carlring *et al.*, *PLoS One*, 2011, 6:e22533, incorporado como referencia en su totalidad. Los métodos para crear DVD-Igs™ se describen en la Patente de los EE. UU. n.º 7,612,181, y se incorporan como referencia en su totalidad. Los métodos para crear DART™ se describen en Moore *et al.*, *Blood*, 2011, 117:454-451, incorporados como referencia en su totalidad. Los métodos para crear DuoBodies® se describen en Labrijn *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU.*, 2013, 110:5145-5150; Gramer *et al.*, *mAbs*, 2013, 5:962-972; y Labrijn *et al.*, *Nature Protocols*, 2014, 9:2450-2463; cada una de las cuales se incorpora como referencia en su totalidad. Los métodos para crear anticuerpos que comprenden scFv fusionados al C-terminal del C_{H3} a partir de un IgG se describen en Coloma and Morrison, *Nature*

Biotechnol., 1997, 15:159-163, incorporados como referencia en su totalidad. Los métodos para crear anticuerpos en los que una molécula Fab está unida a la región constante de una inmunoglobulina se describen en Miler *et al.*, *J. Immunol.*, 2003, 170:4854-4861, incorporados como referencia en su totalidad. Los métodos para crear CovX-Bodies se describen en Doppalapudi *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, 107:22611-22616, incorporada como referencia en su totalidad. Los métodos para crear anticuerpos Fcab se describen en Wozniak-Knopp *et al.*, *Protein Eng. Des. Sel.*, 2010, 23:289-297, incorporada como referencia en su totalidad. Los métodos para crear anticuerpos TandAb® se describen en *Kipriyanov et al., J. Mol. Biol.*, 1999, 293:41-56 y Zhukovsky *et al.*, *Blood*, 2013, 122:5116, cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad. Los métodos para crear de Fabs en tándem se describen en el documento WO 2015/103072, incorporado como referencia en su totalidad. Los métodos para crear Zybodies™ se describen en LaFleur *et al.*, *mAbs*, 2013, 5:208-218, incorporados como referencia en su totalidad.

4.9. Métodos de crear variantes

[00449] En algunas realizaciones, un anticuerpo proporcionado en el presente documento es una variante madura por afinidad de un anticuerpo parental, que puede generarse, por ejemplo, mediante técnicas de maduración de afinidad con base en la presentación de fagos. En resumen, uno o más residuos de CDR pueden mutar y los anticuerpos variantes, o porciones de estos, pueden presentarse en fagos y seleccionarse por afinidad. Tales alteraciones pueden realizarse en “puntos activos” de CDR, o residuos codificados por codones que sufren mutación a alta frecuencia durante el proceso de maduración somática (*ver* Chowdhury, *Methods Mol. Biol.*, 2008, 207:179-196, incorporado como referencia en su totalidad), y/o residuos que entran en contacto con el antígeno.
[00450] Se puede usar cualquier método adecuado para introducir la variabilidad en una o unas secuencias de polinucleótidos que codifican un anticuerpo, incluida la PCR propensa a errores, la combinación aleatoria de cadenas y la mutagénesis dirigida a oligonucleótidos, tal como la mutagénesis dirigida a

trinucleótidos (TRIM). En algunos aspectos, se aleatorizan varios residuos de CDR (p. ej., 4-6 residuos a la vez). Los residuos de CDR involucrados en la unión al antígeno pueden identificarse específicamente, por ejemplo, mediante la mutagénesis o el modelado de exploración de alanina. Particularmente, CDR-H3 y CDR-L3 a menudo son un blanco de mutación.

[00451] La introducción de la diversidad en las regiones variables y/o CDR se puede utilizar para producir una colección secundaria. La colección secundaria, luego, se examina para identificar variantes de anticuerpos con afinidad mejorada. La maduración por afinidad mediante la construcción y la reselección de colecciones secundarias se ha descrito, por ejemplo, en Hoogenboom *et al.*, *Methods in Molecular Biology*, 2001, 178:1-37, incorporado como referencia en su totalidad.

4.10. Vectores, células hospedadoras y métodos recombinantes

[00452] También se proporcionan ácidos nucleicos aislados que codifican anticuerpos TF, vectores que comprenden los ácidos nucleicos y células hospedadoras que comprenden los vectores y ácidos nucleicos, así como técnicas recombinantes para la producción de los anticuerpos.

[00453] Para la producción recombinante de un anticuerpo, el o los ácidos nucleicos que lo codifican pueden aislarse e insertarse en un vector replicable para una clonación o expresión adicional (es decir, amplificación del DNA). En algunos aspectos, el ácido nucleico puede producirse mediante la recombinación homóloga, por ejemplo, como se describe en la Patente de los EE. UU. n.º 5,204,244, incorporada como referencia en su totalidad.

[00454] Se conocen muchos vectores diferentes en la técnica. Los componentes del vector generalmente incluyen uno o más de los siguientes: una secuencia seña, un origen de replicación, uno o más genes marcadores, un elemento potenciador, un promotor y una secuencia de finalización de la transcripción, por ejemplo, como se describe en la Patente de los EE. UU. n.º 5,534,615, incorporada como referencia en su totalidad.

[00455] A continuación, se ofrecen ejemplos ilustrativos de células hospedadoras adecuadas. No se pretende que estas células hospedadoras sean limitantes, y se puede usar cualquier célula hospedadora adecuada para producir los anticuerpos proporcionados en el presente documento.

[00456] Las células hospedadoras adecuadas incluyen cualquier célula procariota (p. ej., bacteriana), eucariota inferior (p. ej., levadura) o eucariota superior (p. ej., mamífero). Las procariotas adecuadas incluyen eubacterias, tales como organismos Gram-negativos o Gram-positivos, por ejemplo, Enterobacteriaceae, tal como *Escherichia* (*E. coli*), *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella* (*S. typhimurium*), *Serratia* (*S. marcescans*), *Shigella*, *Bacilli* (*B. subtilis* y *B. licheniformis*), *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*), y *Streptomyces*. Un huésped de clonación de *E. coli* útil es *E. coli* 294, aunque también son adecuadas otras cepas tales como *E. coli* B, *E. coli* X1776 y *E. coli* W3110.

[00457] Además de los procariotas, los microbios eucariotas, como los hongos filamentosos o la levadura, también son hospedadores de clonación o expresión adecuados para los vectores que codifican el anticuerpo TF. *Saccharomyces cerevisiae*, o levadura de panadería común, es un microorganismo hospedador eucariota inferior comúnmente utilizado. Sin embargo, existen otros géneros, especies y cepas disponibles y útiles, tales como *Schizosaccharomyces pombe*, *Kluyveromyces* (*K. lactis*, *K. fragilis, K. bulgaricus K. wickeramii*, *K. waltii*, *K. drosophilarum*, *K. thermotolerans*, and *K. marxianus*), *Yarrowia*, *Pichia pastoris*, *Candida* (*C. albicans*), *Trichoderma reesia*, *Neurospora crassa*, *Schwanniomyces* (*S. occidentalis*), y hongos filamentosos como, por ejemplo, *Penicillium*, *Tolypocladium*, y *Aspergillus* (*A. nidulans* y *A. niger*).

[00458] Las células hospedadoras de mamíferos útiles incluyen células COS-7, células HEK293, células de riñón de cría de hámster (BHK), células de ovario de hámster chino (CHO), células de sertoli de ratón, células de riñón de mono verde africano (VERO-76) y similares.

[00459] Las células hospedadoras utilizadas para producir el anticuerpo TF de esta invención pueden cultivarse en diversos medios. Los medios disponibles comercialmente como, por ejemplo, Ham's F10, Minimal Essential Medium (MEM), RPMI-1640, y Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) son adecuados para cultivar las células hospedadoras. Además, se puede usar cualquiera de los medios descritos en Ham *et al.*, *Meth. Enz.*, 1979, 58:44; Barnes *et al.*, *Anal. Biochem.*, 1980, 102:255; y las Patentes de los EE. UU. n.° 4,767,704, 4,657,866, 4,927,762, 4,560,655 y 5,122,469; o los documentos WO 90/03430 y WO 87/00195. Cada una de las referencias anteriores se incorpora como referencia en su totalidad.

[00460] Cualquiera de estos medios puede complementarse según sea necesario con hormonas y/u otros factores de crecimiento (como insulina, transferrina o factor de crecimiento epidérmico), sales (como cloruro de sodio, calcio, magnesio y fosfato), tampones (como HEPES), nucleótidos (como adenosina y timidina), antibióticos, oligoelementos (definidos como compuestos inorgánicos que suelen estar presentes en concentraciones finales dentro del intervalo micromolar) y glucosa o una fuente de energía equivalente. Cualquier otro suplemento necesario también puede incluirse en concentraciones apropiadas que serían conocidas por los expertos en la técnica.

[00461] Las condiciones de cultivo, tales como temperatura, pH y similares, son las que se usaron previamente con la célula hospedadora seleccionada para la expresión, y serán evidentes para el experto en la técnica.

[00462] Al utilizar técnicas recombinantes, el anticuerpo puede producirse intracelularmente, en el espacio periplásmico, o secretarse directamente en el medio. Si el anticuerpo se produce intracelularmente, como primer paso, los restos particulados, ya sean células hospedadoras o fragmentos lisados, se eliminan, por ejemplo, mediante centrifugación o ultrafiltración. Por ejemplo, Carter *et al.* (*Bio/Technology*, 1992, 10:163-167, incorporado como referencia en su totalidad) describe un procedimiento para aislar anticuerpos que se secretan al espacio periplásmico de *E. coli*. En resumen, la pasta de células se descongela

en presencia de acetato de sodio (pH 3,5), EDTA y fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF) durante aproximadamente 30 minutos. Los restos celulares se pueden eliminar mediante centrifugación.

[00463] En algunas realizaciones, el anticuerpo se produce en un sistema sin células. En algunos aspectos, el sistema sin células es un sistema de transcripción y traducción *in vitro* como se describe en in *et al.*, *mAbs*, 2012, 4:217-225, incorporado como referencia en su totalidad. En algunos aspectos, el sistema sin células utiliza un extracto sin células de una célula eucariota o procariota. En algunos aspectos, la célula procariota es *E. coli*. La expresión sin células del anticuerpo puede ser útil, por ejemplo, cuando el anticuerpo se acumula en una célula como un agregado insoluble, o cuando los rendimientos de la expresión periplásmica son bajos.

[00464] Donde el anticuerpo se segrega en el medio, los sobrenadantes de dichos sistemas de expresión generalmente se concentran primero usando un filtro de concentración de proteína disponible en el mercado, por ejemplo, una unidad de ultrafiltración Amicon® o Millipore® Pellcon®. Se puede incluir un inhibidor de peptidasa como PMSF en cualquiera de los pasos mencionados para inhibir la proteólisis e incluir antibióticos para evitar que crezcan contaminantes fortuitos.

[00465] La composición del anticuerpo preparada a partir de las células se puede purificar usando, por ejemplo, cromatografía de hidroxilapatita, electroforesis en gel, diálisis y cromatografía por afinidad, siendo esta última una técnica de purificación especialmente útil. La idoneidad de la proteína A como ligando de afinidad depende de la especie y del isotipo de cualquier dominio Fc de las inmunoglobulinas que esté presente en el anticuerpo. La proteína A se puede emplear para purificar anticuerpos que comprenden cadenas pesadas γ1, γ2 o γ4 humanas (Lindmark *et al.*, *J. Immunol. Meth.*, 1983, 62:1-13, incorporado como referencia en su totalidad). La proteína G sirve para todos los isotipos de ratón y para γ3 humano (Guss *et al.*, *EMBO J.*, 1986, 5:1567-1575, incorporado como referencia en su totalidad).

[00466] La matriz a la que se fija el ligando de afinidad generalmente es la agarosa, pero hay otras matrices disponibles. Desde el punto de vista mecánico, las matrices como el vidrio poroso controlado o poli(estirenodivinilo)benceno permiten tasas de flujo más rápidas y tiempos de procesamiento más cortos que los que se obtienen con la agarosa. Donde el anticuerpo comprende un dominio C_{H3}, la resina BakerBond ABX® sirve para la purificación.

[00467] Otras técnicas para purificar la proteína, como el fraccionamiento en una columna de intercambio iónico, la precipitación de etanol, la HPLC de fase inversa, la cromatografía en sílice, la cromatografía en heparina Sepharose®, el cromatoenfoque, SDS-PAGE y la precipitación de sulfato de amonio también están disponibles y las personas con capacidades de la técnica pueden aplicarlas.

[00468] Tras los pasos de purificación preliminares, la mezcla que comprende el anticuerpo de interés y los contaminantes pueden someterse a una cromatografía de interacción hidrofóbica de pH bajo mediante un amortiguador de elución a un pH de entre 2,5 y 4,5 aproximadamente, generalmente realizada a bajas concentraciones de sal (p. ej., aproximadamente de 0 a 0,25 M de sal).

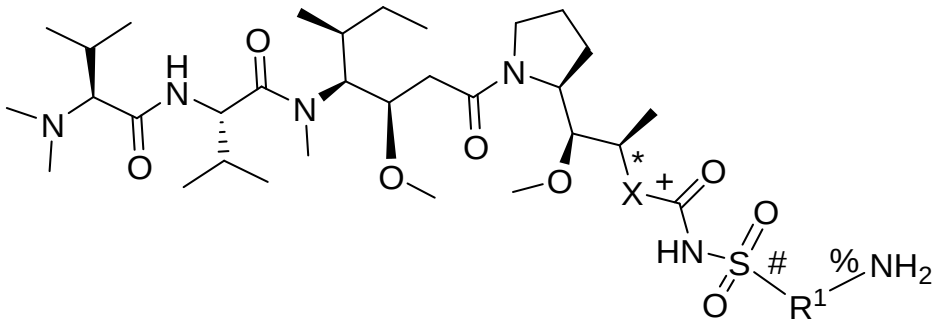
5. Agentes citotóxicos

[00469] En algunas realizaciones, los ADC proporcionados en el presente documento comprenden un agente citotóxico. Los agentes citotóxicos que se proporcionan en el presente documento incluyen varios antineoplásicos o anticancerosos conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, los agentes citotóxicos destruyen las células cancerosas. En algunas realizaciones, los agentes citotóxicos inhiben el crecimiento o la proliferación de las células cancerosas.

[00470] Los agentes citotóxicos adecuados incluyen antiangiogénicos, proapoptóticos, antimitóticos, agentes anticinasa, alquilantes, hormonas, agonistas de hormonas, antagonistas de hormonas, quimiocinas, fármacos, profármacos, toxinas, enzimas, antimetabolitos, antibióticos, alcaloides e isótopos radioactivos.

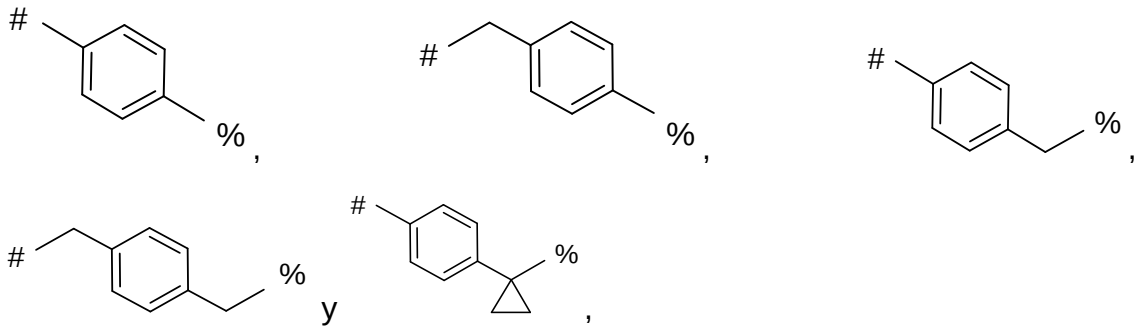
[00471] En algunas realizaciones, el agente citotóxico comprende al menos uno de los siguientes: calicheamicina, camptotecina, carboplatino, irinotecán, SN-38, ciclofosfamida, citarabina, dacarbacina, docetaxel, dactinomicina, daunorrubicina, doxorrubicina, etopósido, idarubicina, topotecán, alcaloide de vinca, maitansinoide, análogo de maitansinoide, pirrolobenzodiazepina, taxoide, duocarmicina, dolastatina, auristatina y derivados de estos.

En determinadas realizaciones, el agente citotóxico es un derivado de auristatina. En determinadas realizaciones, el derivado de auristatina es una porción de monometil auristatina E (MMAE). En determinadas realizaciones, el derivado de auristatina es una porción de monometil auristatina F (MMAF). En algunas realizaciones, el derivado de auristatina es uno de los derivados de auristatina descrito en la publicación de solicitud de patente internacional n.º WO 2016/041082. En algunas realizaciones, el derivado de auristatina es una porción derivada de un compuesto de la Fórmula general **I**:



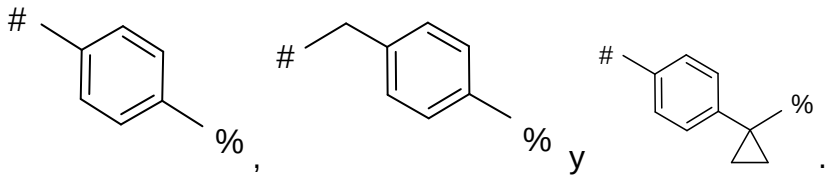
Fórmula I

donde: X es *-C(O)NHCH(CH_2(R^2))-$^{+}$, donde * y + representan los puntos respectivos de fijación como se indica en la Fórmula **I** o X está ausente; R^1 se selecciona del grupo que consiste en:

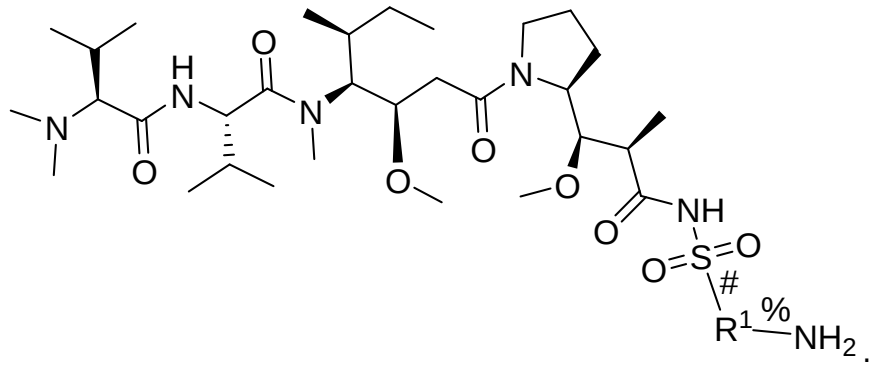


donde # y % representan los puntos respectivos de fijación como se indica en la Fórmula **I**; y R^2 es fenilo.

[00472] En algunas realizaciones, en compuestos de la Fórmula general **I**, R^1 se selecciona del grupo que consiste en:

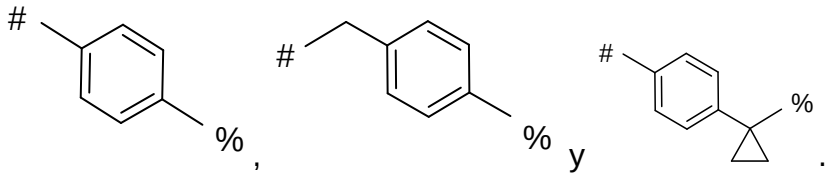


[00473] En algunas realizaciones, en compuestos de la Fórmula general **I**, el compuesto está representado por la Fórmula **II**:

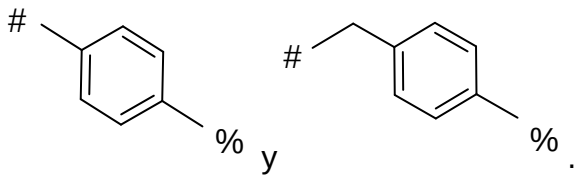


Fórmula II

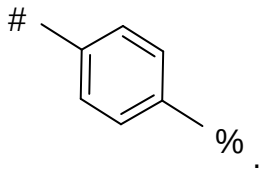
[00474] En algunas realizaciones, en compuestos de la Fórmula general **II**, R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



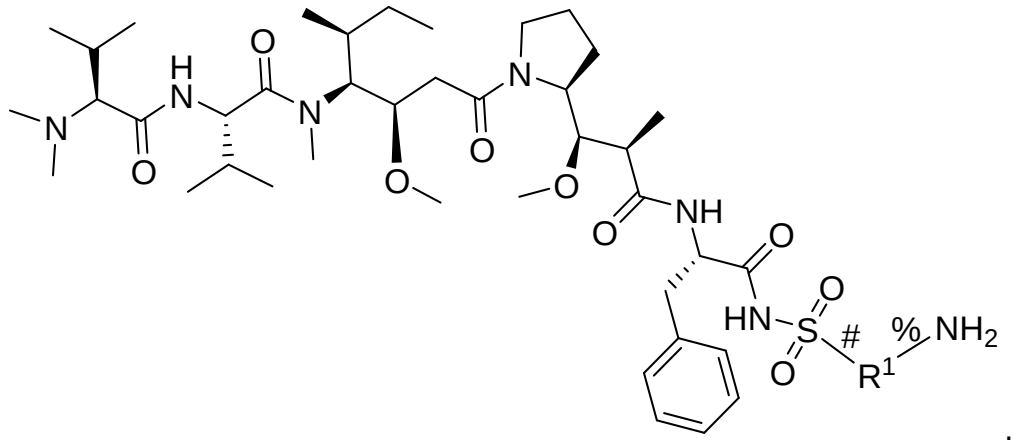
[00475] En algunas realizaciones, en compuestos de la Fórmula general **II**, R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



[00476] En algunas realizaciones, en compuestos de la Fórmula general **II**, R^1 es:

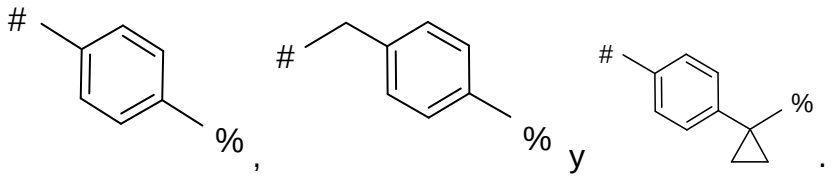


[00477] En algunas realizaciones, en compuestos de la Fórmula general **I**, el compuesto está representado por la Fórmula **III**:

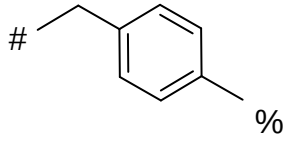


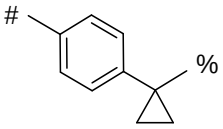
Fórmula III

[00478] En algunas realizaciones, en compuestos de la Fórmula general **III**, R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



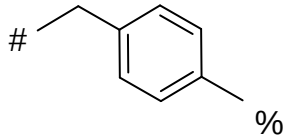
[00479] En algunas realizaciones, en compuestos de la Fórmula general **III**, R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



y


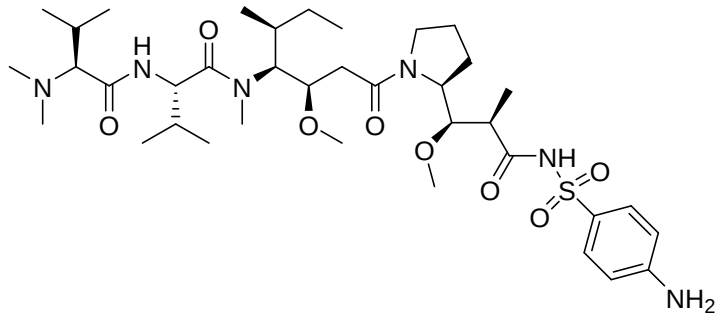
.

[00480] En algunas realizaciones, en compuestos de la Fórmula general **III**, R^1 es:



.

[00481] En algunas realizaciones, el compuesto de la Fórmula **I** es el compuesto **9**:

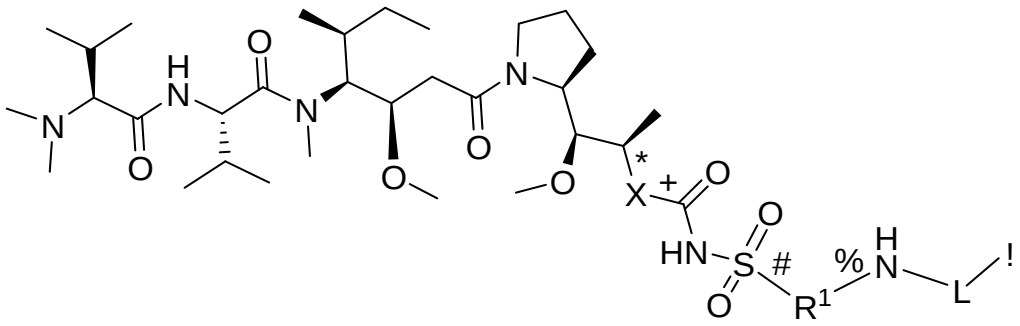


Compuesto **9**

[00482] Debe entenderse que la referencia a los compuestos de la Fórmula general **I** durante el resto de esta divulgación incluye, en varias realizaciones, los compuestos de la Fórmula general **II** y de la Fórmula general **III**, en la misma medida como si las realizaciones que listan cada una de estas fórmulas de manera individual fueran listadas específicamente.

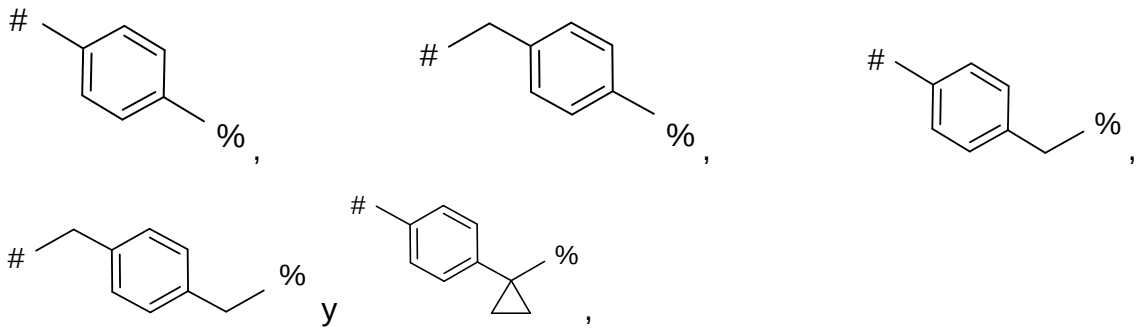
[00483] En algunas realizaciones, el agente citotóxico es un agente diagnóstico, tales como isótopo radioactivo, un quelante metálico, una enzima, un compuesto fluorescente, un compuesto bioluminiscente o un compuesto quimioluminiscente.

[00484] En algunas realizaciones, el agente citotóxico es una carga eficaz citotóxica con un perfil mejorado, por ejemplo, XMT-1267 y otras cargas efectivas citotóxicas que se describen en Trail *et al.*, *Pharmacol Ther*, 2018, 181:126-142.
[00485] En determinadas realizaciones, el ADC de la presente divulgación comprende un anticuerpo TF conjugado con un derivado de la auristatina (toxina) mediante un conector (L). En determinadas realizaciones, el ADC comprende: (a) una proteína de unión de antígeno (Ab) que se une al dominio extracelular del factor de tejido (TF) humano, en el que Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2 y una VL-CDR3, donde (I) la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 877, (II) la VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 provienen del anticuerpo designado 25A3, (III) la VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 provienen del anticuerpo designado 25A, (I) la VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 provienen del anticuerpo designado 25A5, (V) la VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 provienen del anticuerpo designado 25A5-T, o (VI) la VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 provienen del anticuerpo designado 25G1; y (b) una o más porciones del conector-toxina representadas por la Fórmula **IV**:



Fórmula IV

donde: X es *-C(O)NHCH(CH_2(R^2))-$^{+}$, donde * y + representan los puntos respectivos de fijación como se indica en la Fórmula **IV** o X está ausente; L es un conector; ! representa el punto de fijación de L al Ab, donde L se fija al Ab a través de un enlace covalente; R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



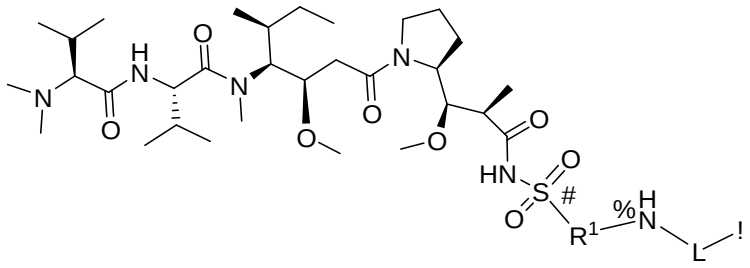
donde # y % representan los puntos respectivos de fijación como se indica en la Fórmula **IV**; y R^2 es fenilo.

[00486] En algunas realizaciones, en la porción de conector-toxina de la Fórmula general **IV**, X está ausente.

[00487] En algunas realizaciones, en la porción de conector-toxina de la Fórmula general **IV**, L es un conector de escisión.

[00488] En algunas realizaciones, en la porción de conector-toxina de la Fórmula general **IV**, L es un conector que contiene un péptido.

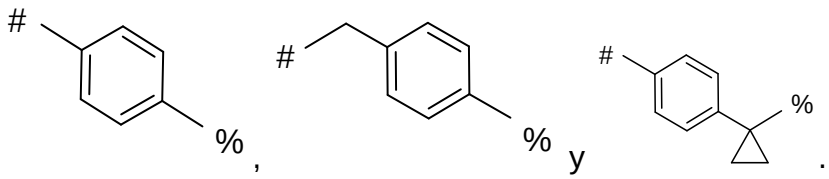
[00489] En algunas realizaciones, la porción de conector-toxina de la Fórmula general **IV** está representada por la Fórmula general **V**:



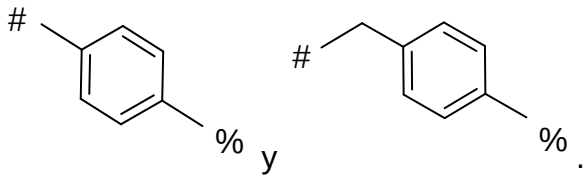
Fórmula V

donde R^1, L y ! corresponden a las definiciones mencionadas antes para la Fórmula general **IV**.

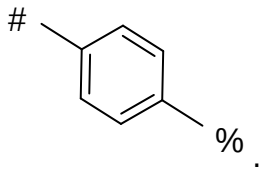
[00490] En algunas realizaciones, en la porción de conector-toxina de la Fórmula general **V**, R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



[00491] En algunas realizaciones, en la porción de conector-toxina de la Fórmula general **V**, R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



[00492] En algunas realizaciones, en la porción de conector-toxina de la Fórmula general **V**, R^1 es:



[00493] En algunas realizaciones, en la porción de conector-toxina de la Fórmula general **V**, L es un conector de escisión.

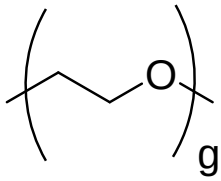
[00494] En algunas realizaciones, en la porción de conector-toxina de la Fórmula general **V**, L es un conector que contiene un péptido.

[00495] En algunas realizaciones, en la porción de conector-toxina de la Fórmula general **V**, L es un conector de escisión de peptidasa.

[00496] En algunas realizaciones, en la porción de conector-toxina de la Fórmula general **IV** o de la Fórmula general **V**, L es un conector seleccionado de uno de N-(β-maleimidopropiloxi)-N-hidroxisuccinimida éster (BMPS), N-(ε-maleimidocaproiloxi)succinimida éster (EMCS), N-[γ-maleimidobutiriloxi]succinimida éster (GMBS), 1,6-hexano-bis-vinilsulfona (HBVS), succinimidil 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxi-(6-amidocaproato) (LC-SMCC), m-maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimida éster

(MBS), 4-(4-N-Maleimidofenil)ácido butírico hidrazida (MPBH), succinimidil 3-(bromoacetamido)propionato (SBAP), succinimidil yodoacetato (SIA), succinimidil (4-yodoacetil)aminobenzoato (SIAB), N-succinimidil-3-(2-piridilditio) propionato (SPDP), N-succinimidil-4-(2-piridiltio)pentanoato (SPP), succinimidil 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato (SMCC), succinimidil 4-(p-maleimidofenil)butirato (SMPB), succinimidil 6-[(β-maleimidopropionamido)hexanoato] (SMPH), iminotiolano (IT), sulfo-EMCS, sulfo-GMBS, sulfo-KMUS, sulfo-MBS, sulfo-SIAB, sulfo-SMCC, sulfo-SMPB y succinimidil-(4-vinilsulfona)benzoato (SVSB).

[00497] En algunas realizaciones, en la porción de conector-toxina de la Fórmula general **IV** o de la Fórmula general **V**, L comprende una cadena poli(etilen)glicol de la fórmula:

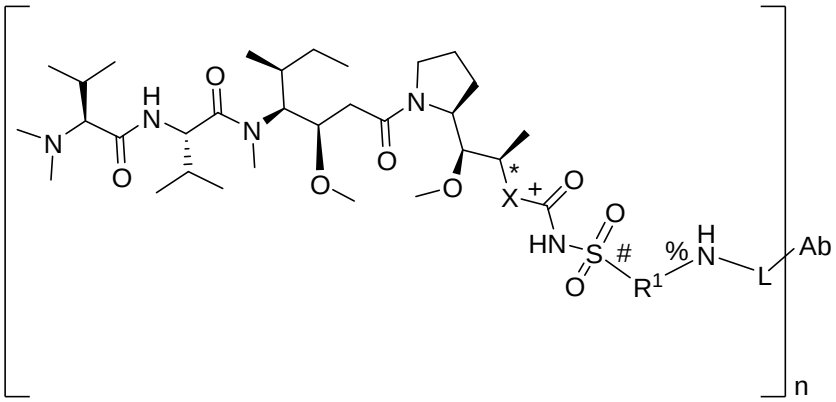


donde g es un número entero del 1 al 20.

[00498] En algunas realizaciones, en la porción de conector-toxina de la Fórmula general **IV** o de la Fórmula general **V**, g es 3.

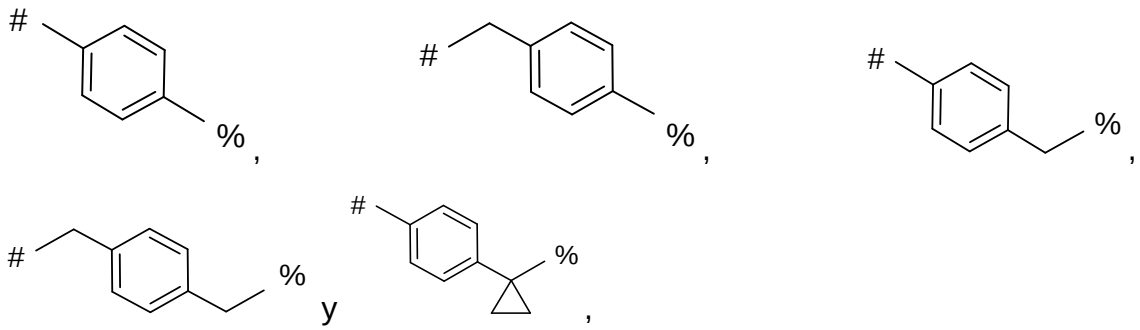
[00499] También contemplado en el presente documento están los ADC que comprenden un anticuerpo TF conjugado con un conector-toxina de la Fórmula general **IV** o de la Fórmula general **V**, en las que el conector tiene la Fórmula general **VIII** o la Fórmula general **IX** como se describe a continuación.

[00500] En determinadas realizaciones, el ADC de la presente divulgación que comprende un anticuerpo de factor de tejido (TF) conjugado con un derivado de auristatina (toxina) mediante un conector (L) tiene la Fórmula general **VI**:



Fórmula VI

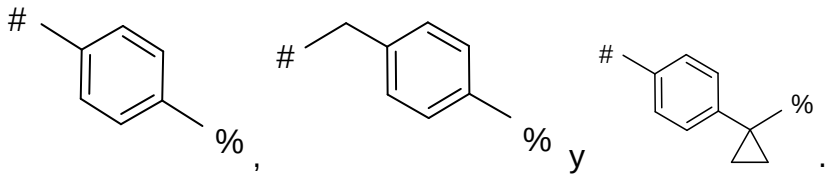
donde: Ab representa el anticuerpo TF; n es un número entero mayor o igual a 1; X es *-C(O)NHCH(CH_2(R^2))-$^{+}$, donde * y + representan los puntos respectivos de fijación como se indica en la Fórmula **VI** o X está ausente; L es un conector; donde L se fija al Ab a través de un enlace covalente; R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



donde # y % representan los puntos respectivos de fijación como se indica en la Fórmula **VI**; y R^2 es fenilo.

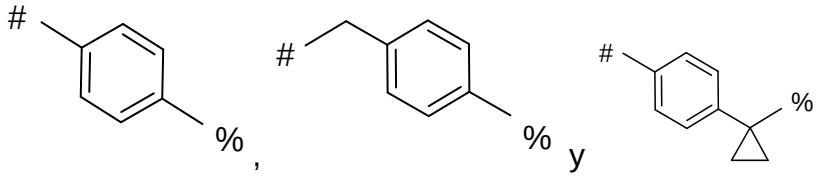
[00501] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, n es un número entero del 1 al 10. En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, n es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4 y 5. En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, n es un número entero que se selecciona del grupo que consiste en 2, 3 y 4.

[00502] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



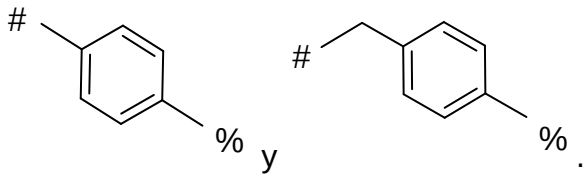
[00503] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, X está ausente.

[00504] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, R^1 se selecciona del grupo que consiste en:

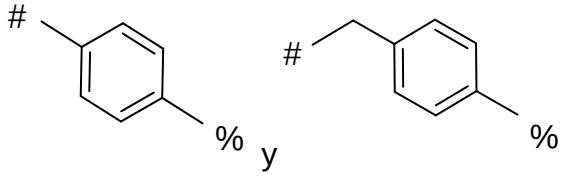


, y X está ausente.

[00505] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, R^1 se selecciona del grupo que consiste en:

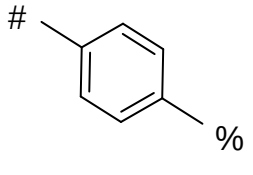


[00506] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, R^1 se selecciona del grupo que consiste en:

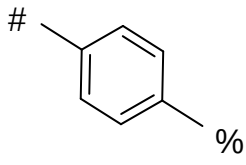


, y X está ausente.

[00507] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, R^1 es:



[00508] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, R^1 es:

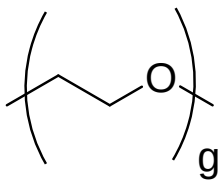


, y X está ausente.

[00509] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, L es un conector de escisión. En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, L es un conector que contiene un péptido. En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, L es un conector de escisión de peptidasa.

En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, L es un conector seleccionado de uno de N-(□□-maleimidopropiloxi)-N-hidroxisuccinimida éster (BMPS), N-(□-maleimidocaproiloxi)succinimida éster (EMCS), N-[□□maleimidobutiriloxi]succinimida éster (GMBS), 1,6-hexano-bis-vinilsulfona (HBVS), succinimidil 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxi-(6-amidocaproato) (LC-SMCC), m-maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimida éster (MBS), 4-(4-N-maleimidofenil)ácido butírico hidrazida (MPBH), succinimidil 3-(bromoacetamido)propionato (SBAP), succinimidil yodoacetato (SIA), succinimidil (4-yodoacetil)aminobenzoato (SIAB), N-succinimidil-3-(2-piridilditio) propionato (SPDP), N-succinimidil-4-(2-piridiltio)pentanoato (SPP), succinimidil 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato (SMCC), succinimidil 4-(p-maleimidofenil)butirato (SMPB), succinimidil 6-[(□□maleimidopropionamido)hexanoato] (SMPH), iminotiolano (IT), sulfo-EMCS, sulfo-GMBS, sulfo-KMUS, sulfo-MBS, sulfo-SIAB, sulfo-SMCC, sulfo-SMPB y succinimidil-(4-vinilsulfona)benzoato (SVSB).

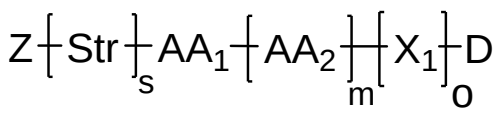
[00510] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, L comprende una cadena poli(etilen)glicol de la fórmula:



donde g es un número entero del 1 al 20.

[00511] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, g es 3.

[00512] En determinadas realizaciones del ADC de la fórmula general **VI**, L está representado por un conector de la Fórmula general **VII**:



Fórmula VII

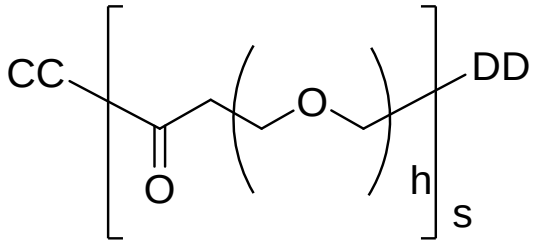
donde: Z representa un grupo funcional que se une a un grupo objetivo (p. ej., el tiol de una cisteína o amina primaria de un grupo de lisina) del anticuerpo TF; D representa el punto de fijación a un grupo amino como se indica en la Fórmula **VI**; Str es un extensor; AA_1 y AA_2 son cada uno un aminoácido independiente, donde AA_1-$[AA_2]_m$ forma un sitio de escisión de peptidasa; X_1 es un grupo autodestructivo; s es un número entero seleccionado de 0 y 1; m es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3 y 4; y o es un número entero seleccionado de 0, 1 y 2.

[00513] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, donde L es un conector de la Fórmula general **VII**, $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en alquileno, extensores con base en ácidos, extensores con base en diácidos alifáticos, extensores con base en aminas alifáticas y extensores con base en diaminas alifáticas.

[00514] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, donde L es un conector de la Fórmula general **VII**, $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en extensores con base en diglicolato, extensores con base en malonato, extensores con base en caproato y extensores con base en caproamida.

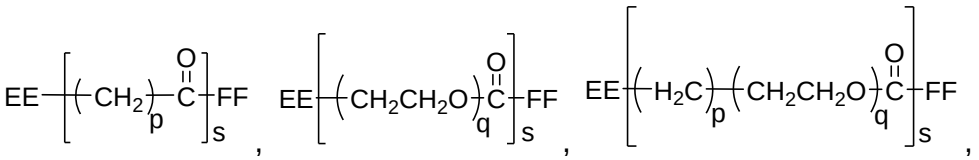
[00515] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, donde L es un conector de la Fórmula general **VII**, $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en extensores con base en glicina, extensores con base en polietilenglicol y extensores con base en monometoxi polietilenglicol.

[00516] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, donde L es un conector de la Fórmula general **VII**, $[Str]_s$ es:



donde h es un número entero del 1 al 20, CC se refiere al punto de fijación a AA_1 y DD se refiere al punto de fijación a Z.

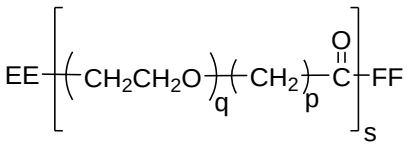
[00517] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, donde L es un conector de la Fórmula general **VII**, $[Str]_s$ se selecciona de:



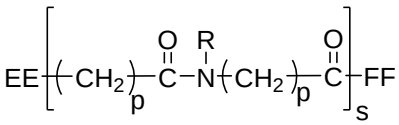
,

,

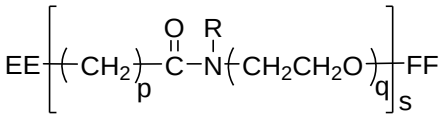
,



,



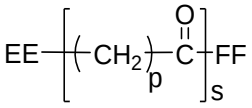
y

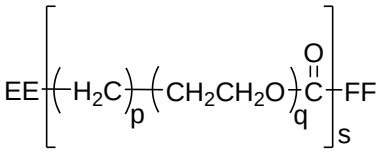


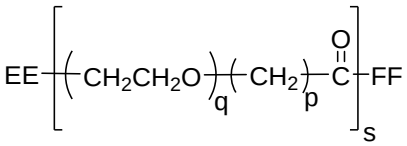
;

donde: EE y FF representan los puntos de fijación a Z y AA_1, respectivamente, R se selecciona de hidrógeno y C_1-C_6 alquilo; cada ocurrencia de p es independientemente un número entero del 2 al 10 y cada ocurrencia de q es independientemente un número entero del 1 al 10.

[00518] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, donde L es un conector de la Fórmula general **VII**, $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en:



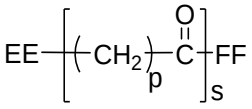
,


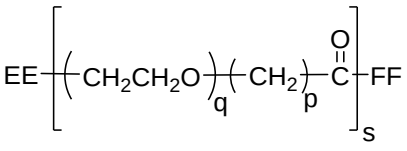
y


,

donde: EE y FF representan los puntos de fijación a Z y AA_1, respectivamente, cada ocurrencia de p es independientemente un número entero del 2 al 10 y cada ocurrencia de q es independientemente un número entero del 1 al 10.

[00519] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, donde L es un conector de la Fórmula general **VII**, $[Str]_s$ se selecciona de:



y


,

donde: EE y FF representan los puntos de fijación a Z y AA_1, respectivamente, cada ocurrencia de p es independientemente un número entero del 2 al 6 y q un número entero del 2 al 8.

[00520] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, donde L es un conector de la Fórmula general **VII**, AA_1-$[AA_2]_m$ se selecciona de Val-Lis, Ala-Lis, Fe-Lis, Val-Cit, Fe-Cit, Leu-Cit, Ile-Cit, Trp-Cit, Fe-Arg, Ala-Fe, Val-Ala, Met-Lis, Asn-Lis, Ile-Pro, Ile-Val, Asp-Val, His-Val, Met-(D)Lis, Asn-(D)Lis, Val-(D)Asp, NorVal-(D)Asp, Ala-(D)Asp, Me_3Lis-Pro, FenilGli-(D)Lis, Met-(D)Lis, Asn-(D)Lis, Pro-(D)Lis, Met-(D)Lis, Met-Cit-Val, Gli-Cit-Val, (D)Fe-Fe-Lis, (D)Ala-Fe-Lis, Gli-Fe-Leu-Gli y Ala-Leu-Ala-Leu.

[00521] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, donde L es un conector de la Fórmula general **VII**, s es 1.

[00522] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, donde L es un conector de la Fórmula general **VII**, o es 0.

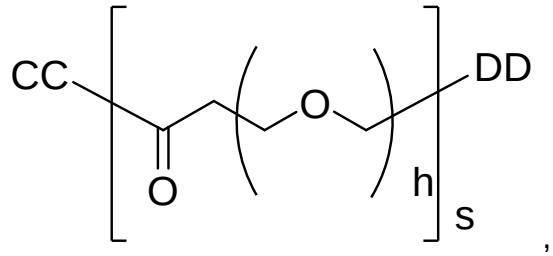
[00523] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, donde L es un conector de la Fórmula general **VII**, m se selecciona de 1, 2 y 3.

[00524] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, donde L es un conector de la Fórmula general **VII**, m es 1.

[00525] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, donde L es un conector de la Fórmula general **VII**, AA_1-$[AA_2]_m$ es un dipéptido seleccionado de Val-Lis, Ala-Lis, Fe-Lis, Val-Cit, Fe-Cit, Leu-Cit, Ile-Cit y Trp-Cit.

[00526] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, donde L es un conector de la Fórmula general **VII**, cada X_1 se selecciona de manera independiente de p-aminobenziloxicarbonilo (PABC), p-aminobenzilo éter (PABE) y etilendiamina metilada (MED).

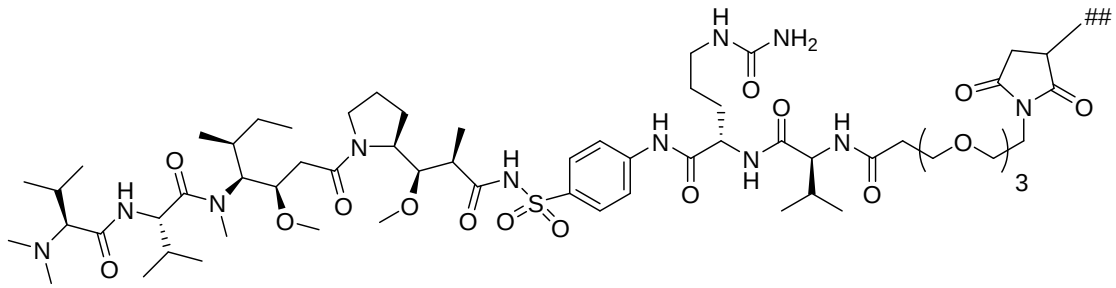
[00527] En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **VI**, donde L es un conector de la Fórmula general **VII** y $[Str]_s$ es:



,

s es 1 y h es 3.

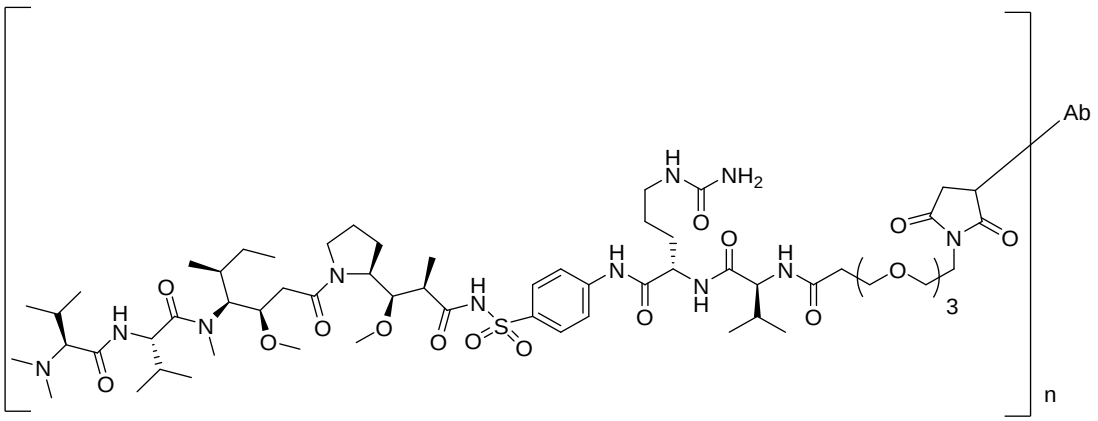
[00528] En determinadas realizaciones, el ADC comprende una porción de conector-toxina que tiene la estructura de la Fórmula **VIII**:



Fórmula VIII

donde ## representa el punto de unión de la porción de enlace-toxina con el anticuerpo TF y la porción enlace-toxina está unida al anticuerpo a través de un enlace covalente

[00529] En algunas realizaciones, se proporciona en el presente documento un conjugado de anticuerpo y fármaco de la Fórmula **IX**:



Fórmula IX

donde:

Ab es un anticuerpo de factor de tejido (TF) y n es un número entero mayor o igual a 1. En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula general **IX**, n es un número entero del 1 al 10. En algunas realizaciones del ADC de la Fórmula general **IX**, n se selecciona del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4 y 5. En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula **IX**, n es un número entero que se selecciona del grupo que consiste en 2, 3 y 4. En algunas realizaciones, en el ADC de la Fórmula **IX**, el grupo succinimidil se fija al Ab a través de un enlace covalente.

[00530] En algunas realizaciones del ADC de Fórmula **IX**, el Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2 y una VL-CDR3, donde

i. la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 877,

ii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A3,

iii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A,

iv. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5,

v. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5-T o

vi. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 provienen del anticuerpo designado 25G1, n es un número entero mayor o igual a 1.

[00531] En algunas realizaciones del ADC de la Fórmula **IX**, el Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2 y una VL-CDR3 del anticuerpo designado 25A3.

[00532] En una realización, los ADC descritos en el presente documento comprenden un anticuerpo que incluye:

una secuencia de cadena pesada completa que es QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDx[V/A]YGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPYx[N/S]GNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de cadena ligera que es DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCx[R/Q]ASx[Q/E]SIx[S/N]x[S/N]WLAWYQQKPGKAPKLLIYKAx[S/Y]x[S/N]LEx[S/Y]GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQx[Q/L]FQx[S/K]LPPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC,

una secuencia de cadena pesada que es QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTY

SPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de cadena ligera que es
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSINNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYN
LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC,
una secuencia de cadena pesada que es
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWI
APYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTY
SPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de cadena ligera que es
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASS
LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQFQSLPPFTFGGGTKVE
IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC,

una secuencia de cadena pesada que es QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDAYGISWVRQAPGQGLEWMGWI APYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTY SPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de cadena ligera que es DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYSL EYGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQFQKLPPFTFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC,

una secuencia de cadena pesada que es QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRSYGISWVRQAPGQGLEWMGW VAPYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGT YSPYGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de cadena ligera que es DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASHSIDSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASY LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN

SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC o

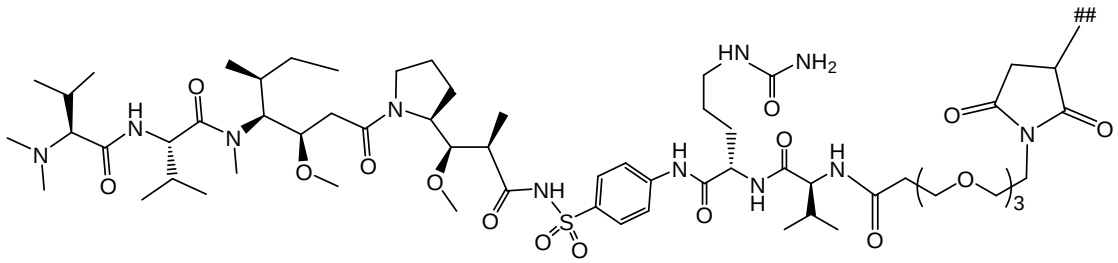
una secuencia de cadena pesada completa que es QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWI APYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTY SPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de cadena ligera que es DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYSL EYGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQFQKLPPFTFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC.

[00533] En una realización, los ADC descritos en el presente documento comprenden un anticuerpo que incluye:

una secuencia de cadena pesada que es QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWI APYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTY SPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de

cadena ligera que es DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSINNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYN LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC.

[00534] En una realización, se describe en el presente documento un conjugado de anticuerpo y fármaco que comprende un anticuerpo (Ab) y uno o más conectores-toxinas de la siguiente estructura de la Fórmula **VIII**:

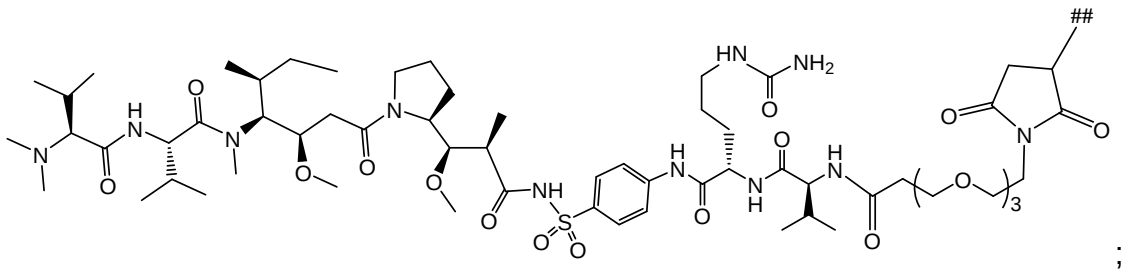


Fórmula VIII

donde: Ab es un anticuerpo de factor de tejido (TF), donde el Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2 y una VL-CDR3 del anticuerpo designado 25A3; uno o más conectores-toxinas se fijan al Ab a través de un enlace covalente y ## representa un punto de fijación del conector-toxina al Ab.

[00535] En algunas realizaciones, se describe en el presente documento una composición que comprende un ADC que incluye un anticuerpo (Ab) y uno o más conectores-toxinas de la Fórmula **VIII**. En una realización, la composición comprende una multiplicidad de especies de proporción de fármaco y anticuerpo (DAR). En algunas realizaciones, la DAR de la composición es 2-4.

[00536] En una realización, se describe en el presente documento un conjugado de anticuerpo y fármaco que comprende un anticuerpo (Ab) y uno o más conectores-toxinas de la siguiente estructura de la Fórmula **VIII**:



;

donde:

Ab es un anticuerpo de factor de tejido (TF), donde el Ab comprende una secuencia de cadena pesada que es QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWI APYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTY SPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de cadena ligera que es DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSINNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYN LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC, uno o más conectores-toxinas se fijan al Ab mediante un enlace covalente y ## representa un punto de fijación del conector-toxina al Ab.

[00537] En otra realización, se describe en el presente documento una composición de conjugado de anticuerpo y fármaco que comprende un ADC de la presente divulgación, donde la composición incluye una multiplicidad de especies de proporción de fármaco y anticuerpo (DAR), donde la DAR promedio de la composición es 2-4.

Conectores

[00538] En algunas realizaciones, los ADC proporcionados en el presente documento comprenden un conector. En algunas realizaciones, un conector sin unir comprende dos terminales reactivas: una terminal reactiva de la conjugación del anticuerpo y una terminal reactiva de la conjugación del agente citotóxico. Por ejemplo, el conector se puede conjugar con el anticuerpo a través de un grupo tiol de cisteína o amino de lisina en el anticuerpo, en cuyo caso, la terminal reactiva de la conjugación del anticuerpo suele ser un grupo reactivo a tiol tales como un enlace doble, un grupo saliente como cloro, bromo o yodo, un grupo R-sulfanilo o grupo sulfonilo, o un grupo aminorreactivo tales como un grupo carboxilo. La terminal reactiva de la conjugación del agente citotóxico del conector se puede conjugar con el agente citotóxico, por ejemplo, mediante la formación de un enlace amida con una amina básica o un grupo carboxilo en la citotoxina.

[00539] En algunas realizaciones, el conector no es un conector de escisión. En algunas realizaciones, el conector es un conector de escisión. En algunas realizaciones, el agente citotóxico se libera del ADC en una célula.

[00540] Los conectores adecuados de los ADC son conectores lábiles, los conectores lábiles ácidos (p. ej., conectores de hidrazona), conectores fotolábiles, conectores cargados, conectores que contienen disulfuro, conectores sensibles a la peptidasa (p. ej., conectores péptidos que comprenden aminoácidos, por ejemplo, valina y/o citrulina tales como citrulina-valina o fenilalanina-lisina), conectores β-glucuronida (*Ver* p. ej. , Graaf *et al.*, *Curr Pharm Des*, 2002, 8:1391-1403), conectores de dimetilo (*Ver* p. ej., Chari *et al.*, *Cancer Research*, 1992, 52:127-131; Patente de los EE. UU. n.º 5,208,020), conectores tio-éter o conectores hidrofóbicos (*Ver* p. ej., Kovtun *et al.*, *Cancer Res.*, 2010, 70:2528-2537).

[00541] Otros conectores son los que tienen un grupo funcional que permite unir dos cisteínas intercadena en el anticuerpo, tales como un conector ThioBridge™

(Badescu *et al*., Bioconjug. Chem., 25:1124–1136 [2014]), un conector de ditiomaleimida (DTM) (Behrens *et al*., Mol. Pharm., 12:3986–3998 [2015]), un conector de ditioaril(TCEP)piridazinediona (Lee *et al.,* Chem. Sci., 7:799-802 [2016]), un conector de dibromopiridazinediona (Maruani *et al*., Nat. Commun., 6:6645 [2015]) y otros conocidos en la técnica.

[00542] Un conector puede comprender uno o más componentes. Por lo general, un conector comprende dos o más componentes. Los componentes de conector ejemplares son los grupos funcionales que reaccionan con el anticuerpo, los grupos funcionales que reaccionan con la toxina, los extensores, los componentes peptídicos, los grupos autodestructivos, los grupos de autoeliminación, las porciones hidrofóbicas y similares. En la técnica se conocen varios componentes de conectores, algunos de los cuales se describen a continuación.

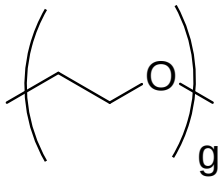
[00543] Determinados componentes de conectores útiles se pueden obtener de varias fuentes comerciales, como Pierce Biotechnology, Inc. (ahora Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) y Molecular Biosciences Inc. (Boulder, Colo.) o se pueden sintetizar según los procedimientos que se describen en la técnica (consulte, por ejemplo, Toki *et al.,* J. Org. Chem., 67:1866-1872 [2002]; Dubowchik, *et al*., Tetrahedron Letters, 38:5257-60 [1997]; Walker, M. A., J. Org. Chem., 60:5352-5355 [1995]; Frisch, *et al.,* Bioconjugate Chem., 7:180-186 [1996]; Patente de los EE. UU. n.º 6,214,345 y 7,553,816, y n.º de publicación de solicitud de patente internacional WO 02/088172).

[00544] Algunos ejemplos de componentes de conector incluyen, a mero título enunciativo, N-(□□maleimidopropiloxi)-N-hidroxisuccinimida éster (BMPS), N-(□-maleimidocaproiloxi)succinimida éster (EMCS), N-[□□maleimidobutiriloxi]succinimida éster (GMBS), 1,6-hexano-bis-vinilsulfona (HBVS), succinimidil 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxi-(6-amidocaproato) (LC-SMCC), m-maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimida éster (MBS), 4-(4-N-Maleimidofenil)ácido butírico hidrazida (MPBH), succinimidil 3-(bromoacetamido)propionato (SBAP), succinimidil yodoacetato (SIA),

succinimidil (4-yodoacetil)aminobenzoato (SIAB), N-succinimidil-3-(2-piridilditio) propionato (SPDP), N-succinimidil-4-(2-piridiltio)pentanoato (SPP), succinimidil 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato (SMCC), succinimidil 4-(p-maleimidofenil)butirato (SMPB), succinimidil 6-[(□□maleimidopropionamido)hexanoato] (SMPH), iminotiolano (IT), sulfo-EMCS, sulfo-GMBS, sulfo-KMUS, sulfo-MBS, sulfo-SIAB, sulfo-SMCC, sulfo-SMPB y succinimidil-(4-vinilsulfona)benzoato (SVSB).

[00545] Otros ejemplos son reactivos bis-maleimida tales como ditiobismaleimidoetano (DTME), bis-maleimido-trioxietileno glicol (BMPEO), 1,4-bismaleimidobutano (BMB), 1,4 bismaleimidil-2,3-dihidroxibutano (BMDB), bismaleimidohexano (BMH), bismaleimidoetano (BMOE), $BM(PEG)_2$ y $BM(PEG)_3$; derivados bifuncionales de imidoésteres (como dimetil adipimidato HCl), ésteres activos (como disuccinimidil suberato), aldehídos (como glutaraldehído), compuestos bis-azido (como bis [p-azidobenzoilo] hexanediamina), derivados bis-diazonio (como bis-[p-diazoniumbenzoilo]-etilendiamina), diisocianatos (como tolueno 2,6-diisocianato) y compuestos de flúor bis-activos (como 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenceno).

[00546] En determinadas realizaciones, el conector comprende una cadena poli(etilen)glicol de la fórmula:



donde g es un número entero del 1 al 20. En algunas realizaciones, g es 3.

[00547] En determinadas realizaciones, el conector es un conector de escisión que comprende un componente peptídico que incluye dos o más aminoácidos y es escindible mediante una peptidasa intracelular, como peptidasa lisosomal o una peptidasa endosomal. Un componente peptídico puede comprender residuos de aminoácidos que ocurren de forma natural y/o aminoácidos menores y/o análogos de aminoácidos que no ocurren de forma natural, tales como la

citrulina. Los componentes peptídicos pueden estar diseñados y optimizados para la escisión enzimática mediante una enzima particular, por ejemplo, una peptidasa asociada a un tumor, catepsina B, C o D, o una peptidasa de plasmina.

[00548] En determinadas realizaciones, el conector incluido en los ADC puede ser un conector que contiene un dipéptido, tales como un conector que contiene valina-citrulia (Val-Cit) o fenilalanina-lisina (Fe-Lis). Otros ejemplos de dipéptidos adecuados para incluir en los conectores son Val-Lis, Ala-Lis, Me-Val-Cit, Fe-homoLis, Fe-Cit, Leu-Cit, Ile-Cit, Trp-Cit, Fe-Arg, Ala-Fe, Val-Ala, Met-Lis, Asn-Lis, Ile-Pro, Ile-Val, Asp-Val, His-Val, Met-(D)Lis, Asn-(D)Lis, Val-(D)Asp, NorVal-(D)Asp, Ala-(D)Asp, Me_3Lis-Pro, FenilGli-(D)Lis, Met-(D)Lis, Asn-(D)Lis, Pro-(D)Lis y Met-(D)Lis. Los conectores de escisión también pueden incluir componentes peptídicos más largos como tripéptidos, tetrapéptidos o pentapéptidos. Los ejemplos incluyen, a mero título enunciativo, los tripéptidos Met-Cit-Val, Gli-Cit-Val, (D)Fe-Fe-Lis y (D)Ala-Fe-Lis, y los tetrapéptidos Gli-Fe-Leu-Gli y Ala-Leu-Ala-Leu.

[00549] En determinadas realizaciones, el agente citotóxico se conjuga con el anticuerpo usando un conector que comprende valina-citrulina (vc).

[00550] Opcionalmente, los conectores de escisión pueden comprender también uno o más componentes adicionales tales como grupos autodestructivos y de autoeliminación, extensores o porciones hidrofóbicas.

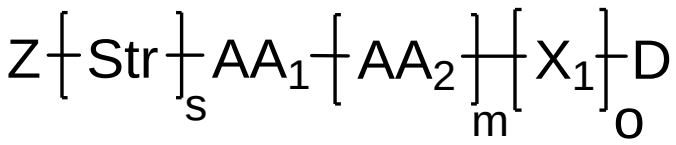
[00551] Los grupos autodestructores y de autoeliminación que sirven en los conectores son, por ejemplo, los grupos p-aminobenziloxicarbonilo (PABC) y p-aminobenzil éter (PABE) y etilendiamina metilada (MED). Otros ejemplos de grupos autodestructivos incluyen, a mero título enunciativo, compuestos aromáticos que son electrónicamente parecidos a los grupos PABC o PABE como derivados heterocíclicos, por ejemplo, derivados 2-aminoimidazol-5-metanol como se describe en la patente de los EE. UU. n.º 7,375,078. Otros ejemplos incluyen grupos que se someten a una ciclación en la hidrólisis del enlace amida, tales como las amidas de ácido 4-aminobutírico sustituidas y sin sustituir (Rodrigues *et al.,* Chemistry Biology, 2:223-227 [1995]) y amidas de

ácido 2-aminofenilpropiónico (Amsberry, *et al*., J. Org. Chem., 55:5867-5877 [1990]).

[00552] Los extensores que pueden servir en conectores para los ADC son, por ejemplo, los grupos alquilenos y los extensores de ácidos alifáticos, diácidos, aminas o diaminas, como diglicolato, malonato, caproato y caproamida. Otros extensores incluyen, por ejemplo, extensores de glicina, extensores de polietilenglicol (PEG) y extensores de monometoxi polietilenglicol (mPEG). Los extensores de PEG y mPEG también funcionan como porciones hidrofóbicas.

[00553] Los ejemplos de componentes que se suelen encontrar en conectores de escisión y pueden servir en los ADC de la presente divulgación en algunas realizaciones incluyen, a mero título enunciativo, SPBD, sulfo-SPBD, hidrazona, Val-Cit, maleidocaproilo (MC o mc), mc-Val-Cit, mc-Val-Cit-PABC, Fe-Lis, mc-Fe-Lis, mc-Fe-Lis-PABC, maleimido trietileno glicolato (MT), MT-Val-Cit, MT-Fe-Lis y adipato (AD).

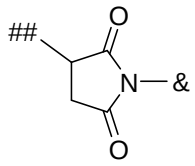
[00554] En determinadas realizaciones, el conector que se incluye en los ADC de la presente divulgación son conectores de péptidos que tienen la Fórmula general **VII**:



Fórmula VII

donde: Str es un extensor; AA_1 y AA_2 son cada uno un aminoácido independiente, donde AA_1-$[AA_2]_m$ forma un sitio de escisión de peptidasa; X_1 es un grupo autodestructor; Z es el punto de fijación a un grupo funcional que se une a un grupo objetivo (p. ej., el tiol de una cisteína o amina primaria de un grupo de lisina) en el anticuerpo; D es el punto de fijación al agente citotóxico; s es 0 o 1; m es un número entero entre 1 y 4 y o es 0, 1 o 2.

[00555] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **VII**, Z es:



,

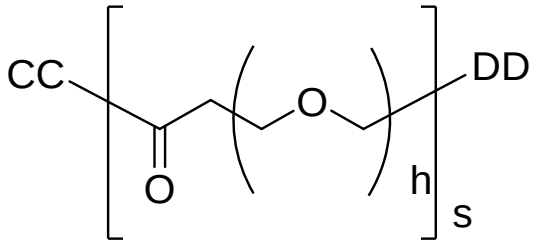
donde ## representa el punto de fijación del grupo succinimidilo al anticuerpo TF y el grupo succinimidilo se fija al anticuerpo TF a través de un enlace covalente y & representa el punto de fijación al $[Str]_s$.

[00556] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **VII**, $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en alquileno, extensores de ácido alifático, extensores de diácidos alifáticos, extensores de aminas alifáticas y extensores de diaminas alifáticas.

[00557] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **VII**, $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en extensores con base en diglicolato, extensores con base en malonato, extensores con base en caproato y extensores con base en caproamida.

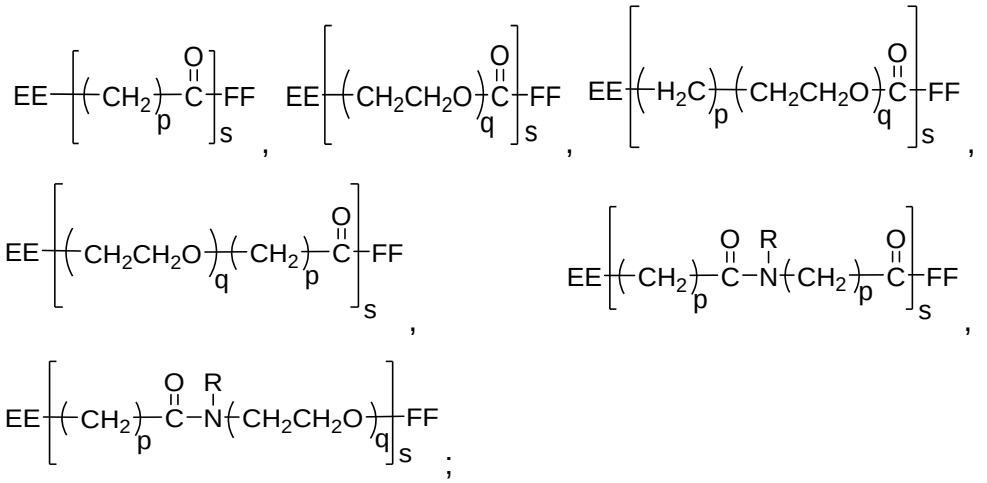
[00558] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **VII**, $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en extensores con base en glicina, extensores con base en polietilenglicol y extensores con base en monometoxi polietilenglicol.

[00559] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **VII**, $[Str]_s$ es:



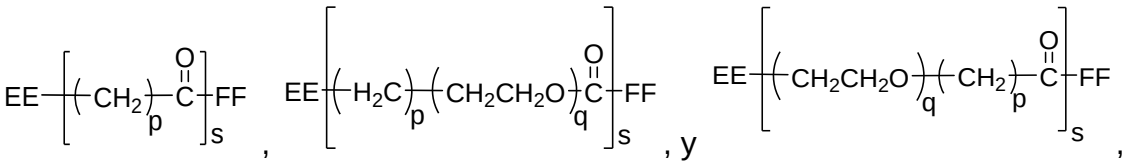
donde h es un número entero del 1 al 20, CC se refiere al punto de fijación a AA_1 y DD se refiere al punto de fijación a Z.

[00560] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **VII**, $[Str]_s$ se selecciona de:



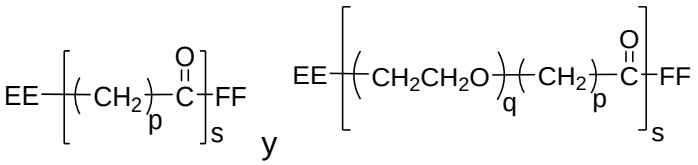
donde: EE y FF representan los puntos de fijación a Z y AA_1, respectivamente, R se selecciona de hidrógeno y C_1-C_6 alquilo; cada ocurrencia de p es independientemente un número entero del 2 al 10 y cada ocurrencia de q es independientemente un número entero del 1 al 10.

[00561] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **VII**, $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en:



donde: EE y FF representan los puntos de fijación a Z y AA_1, respectivamente, cada ocurrencia de p es independientemente un número entero del 2 al 10 y cada ocurrencia de q es independientemente un número entero del 1 al 10.

[00562] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **VII**, $[Str]_s$ se selecciona de:



donde: EE y FF representan los puntos de fijación a Z y AA_1, respectivamente, cada ocurrencia de p es independientemente un número entero del 2 al 6 y q un número entero del 2 al 8.

[00563] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **VII**, AA_1-$[AA_2]_m$ se selecciona de Val-Lis, Ala-Lis, Fe-Lis, Val-Cit, Fe-Cit, Leu-Cit, Ile-Cit, Trp-Cit, Fe-Arg, Ala-Fe, Val-Ala, Met-Lis, Asn-Lis, Ile-Pro, Ile-Val, Asp-Val, His-Val, Met-(D)Lis, Asn-(D)Lis, Val-(D)Asp, NorVal-(D)Asp, Ala-(D)Asp, Me_3Lis-Pro, FenilGli-(D)Lis, Met-(D)Lis, Asn-(D)Lis, Pro-(D)Lis, Met-(D)Lis, Met-Cit-Val, Gli-Cit-Val, (D)Fe-Fe-Lis, (D)Ala-Fe-Lis, Gli-Fe-Leu-Gli y Ala-Leu-Ala-Leu.

[00564] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **VII**, m es 1 (es decir, AA_1-$[AA_2]_m$ es un dipéptido).

[00565] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **VII**, AA_1-$[AA_2]_m$ es un dipéptido seleccionado de Val-Lis, Ala-Lis, Fe-Lis, Val-Cit, Fe-Cit, Leu-Cit, Ile-Cit y Trp-Cit.

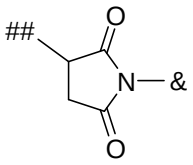
[00566] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **VII**, cada X_1 se selecciona independientemente de p-aminobenziloxicarbonilo (PABC), p-aminobenzil éter (PABE) y etilendiamina metilada (MED).

[00567] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **VII**, m es 1, 2 o 3.

[00568] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **VII**, s es 1.

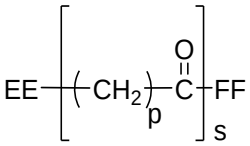
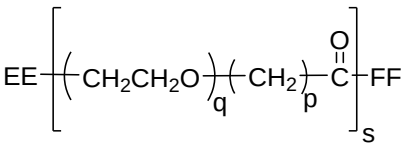
[00569] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **VII**, o es 0.

[00570] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **VII**:

Z es 

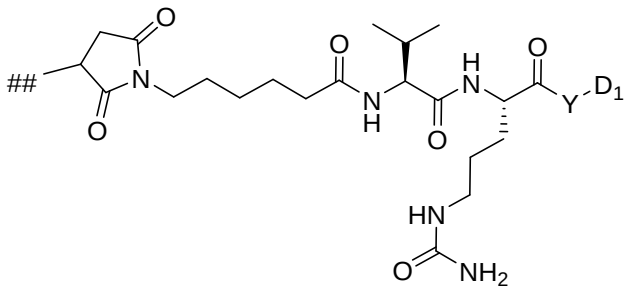
;

donde ## representa el punto de fijación del grupo succinimidilo al anticuerpo TF y el grupo succinimidilo se fija al anticuerpo TF a través de un enlace covalente, & representa el punto de fijación a $[Str]_s$;

$[Str]_s$ se selecciona de  y  ;

EE y FF representan los puntos de fijación de Z y AA_1, respectivamente; p es un número entero entre 2 y 6; q es un número entero entre 2 y 8; m es 1; AA_1-AA_2 es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en Val-Lis, Ala-Lis, Fe-Lis, Val-Cit, Fe-Cit, Leu-Cit, Ile-Cit y Trp-Cit; s es 1; y o es 0.

[00571] En determinadas realizaciones, el conector que se incluye en los ADC de la presente divulgación tienen la Fórmula general **X**:



Fórmula X

donde: ## es el punto de fijación al anticuerpo, y el cuerpo succinimidilo se fija al anticuerpo a través de un enlace covalente; Y es uno o más componentes de conector adicionales o está ausente y D_1 es el punto de fijación a un agente citotóxico. En algunas realizaciones de la Fórmula general **X**, el Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2 y una VL-CDR3, donde

i. la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 877,

ii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A3,

iii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A,

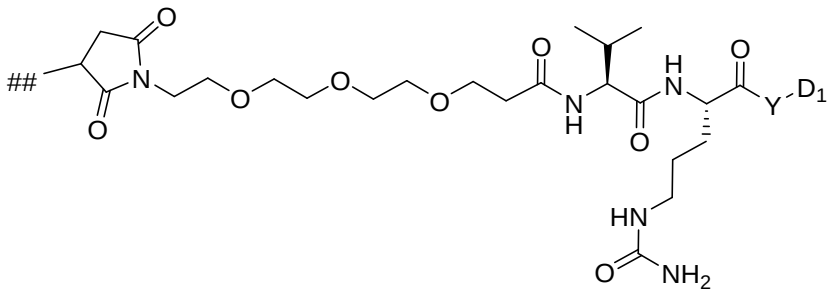
iv. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5,

v. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5-T o

vi. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25G1.

[00572] En algunas realizaciones, en la Fórmula general **X**, Y es $[X_1]_o$, donde X_1 es un grupo autodestructivo y o es un número entero seleccionado entre 1 y 2. En algunas realizaciones, en la Fórmula general **X**, cada X_1 se selecciona independientemente del grupo que consiste en p-aminobenziloxicarbonilo (PABC), p-aminobenzil éter (PABE) y etilendiamina metilada (MED). En algunas realizaciones, en la Fórmula general **X**, Y está ausente.

[00573] En determinadas realizaciones, el conector que se incluye en los ADC de la presente divulgación tiene la Fórmula general **XI**:



Fórmula XI

donde: ## es el punto de fijación al anticuerpo, y el cuerpo succinimidilo se fija al anticuerpo a través de un enlace covalente; Y es uno o más componentes de conector adicionales o está ausente y D_1 es el punto de fijación a un agente citotóxico. En algunas realizaciones, el ADC comprende el conector de la Fórmula general **XI** y el Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2 y una VL-CDR3, donde

i. la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1

comprende la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 877,

ii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A3,

iii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A,

iv. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5,

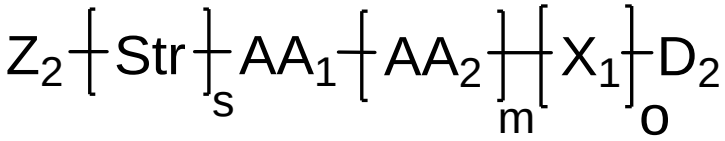
v. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5-T o

vi. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25G1.

[00574] En algunas realizaciones, Y es $[X_1]_o$, donde X_1 es un grupo autodestructivo y o es un número entero que se selecciona entre 1 y 2. En algunas realizaciones, cada X_1 se selecciona independientemente del grupo que consiste en p-aminobenziloxicarbonilo (PABC), p-aminobenzil éter (PABE) y etilendiamina metilada (MED). En algunas realizaciones, Y está ausente. En algunas realizaciones del conector de la Fórmula **X** o la Fórmula **XI**, el agente citotóxico se selecciona del grupo que consiste en un agente diagnóstico, un quelante metálico, una enzima, un compuesto fluorescente, un compuesto bioluminiscente o un compuesto quimioluminiscente.

[00575] En algunas realizaciones del conector de la Fórmula **X** o la Fórmula **XI**, el agente citotóxico es una carga eficaz citotóxica que tiene un perfil de seguridad mejorado.

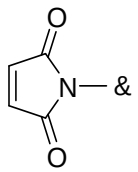
[00576] En otra realización, un compuesto que comprende un conector de la Fórmula general **XII** es capaz de unirse químicamente con un grupo objetivo (p. ej., un tiol de una cisteína o amina primaria de un grupo de lisina) en un anticuerpo de factor de tejido (TF) para formar un ADC de la presente divulgación:



Fórmula XII

donde: Str es un extensor; AA_1 y AA_2 son cada uno un aminoácido independiente, donde AA_1-$[AA_2]_m$ forma un sitio de escisión de peptidasa; X_1 es un grupo autodestructor; D_2 es el punto de fijación a un agente citotóxico; Z_2 es un grupo funcional capaz de reaccionar con un grupo objetivo en un anticuerpo TF para formar un enlace con el anticuerpo TF; s es 0 o 1; m es un número entero entre 1 y 4, y o es 0, 1 o 2.

[00577] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **XII**, Z_2 es:



,

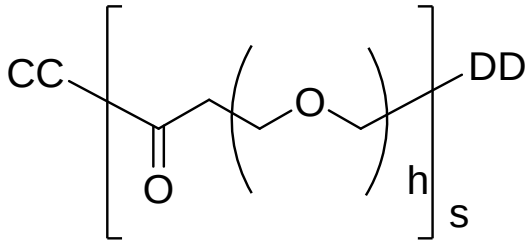
y & representa el punto de unión a $[Str]_s$.

[00578] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **XII**, $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en alquileno, extensores de ácido alifático, extensores de diácidos alifáticos, extensores de aminas alifáticas y extensores de diaminas alifáticas.

[00579] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **XII**, $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en extensores con base en diglicolato, extensores con base en malonato, extensores con base en caproato y extensores con base en caproamida.

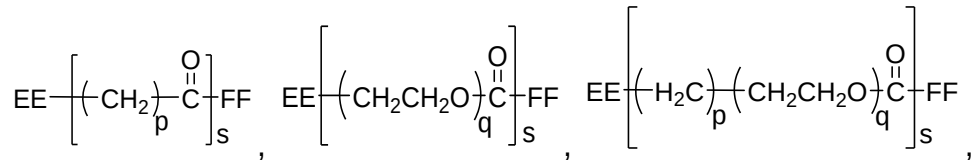
[00580] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **XII**, $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en extensores con base en glicina, extensores con base en polietilenglicol y extensores con base en monometoxi polietilenglicol.

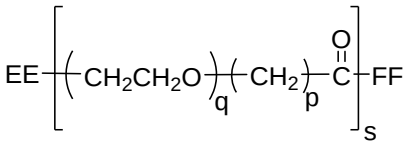
[00581] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **XII**, $[Str]_s$ es:

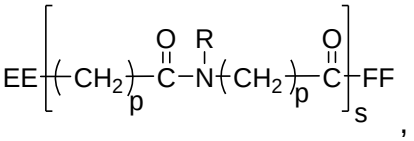


donde h es un número entero del 1 al 20, CC se refiere al punto de fijación a AA_1 y DD se refiere al punto de fijación a Z.

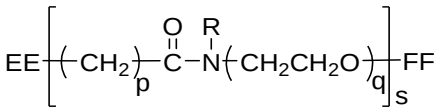
[00582] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **XII**, $[Str]_s$ se selecciona de:







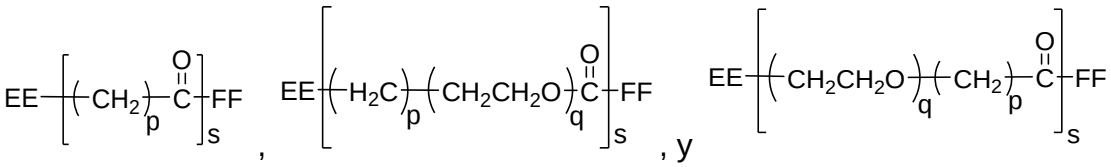
y



;

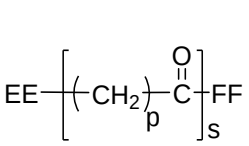
donde: EE y FF representan los puntos de fijación a Z y AA_1, respectivamente, R se selecciona de hidrógeno y C_1-C_6 alquilo; cada ocurrencia de p es independientemente un número entero del 2 al 10 y cada ocurrencia de q es independientemente un número entero del 1 al 10.

[00583] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **XII**, $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en:

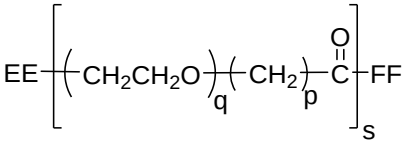


donde: EE y FF representan los puntos de fijación a Z y AA_1, respectivamente, cada ocurrencia de p es independientemente un número entero del 2 al 10 y cada ocurrencia de q es independientemente un número entero del 1 al 10.

[00584] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **XII**, $[Str]_s$ se selecciona de:



y



,

donde: EE y FF representan los puntos de fijación a Z y AA_1, respectivamente, cada ocurrencia de p es independientemente un número entero del 2 al 6 y q un número entero del 2 al 8.

[00585] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **XII**, AA_1-$[AA_2]_m$ se selecciona de Val-Lis, Ala-Lis, Fe-Lis, Val-Cit, Fe-Cit, Leu-Cit, Ile-Cit, Trp-Cit, Fe-Arg, Ala-Fe, Val-Ala, Met-Lis, Asn-Lis, Ile-Pro, Ile-Val, Asp-Val, His-Val, Met-(D)Lis, Asn-(D)Lis, Val-(D)Asp, NorVal-(D)Asp, Ala-(D)Asp, Me_3Lis-Pro, FenilGli-(D)Lis, Met-(D)Lis, Asn-(D)Lis, Pro-(D)Lis, Met-(D)Lis, Met-Cit-Val, Gli-Cit-Val, (D)Fe-Fe-Lis, (D)Ala-Fe-Lis, Gli-Fe-Leu-Gli y Ala-Leu-Ala-Leu.

[00586] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **XII**, m es 1 (es decir, AA_1-$[AA_2]_m$ es un dipéptido).

[00587] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **XII**, AA_1-$[AA_2]_m$ es un dipéptido seleccionado de Val-Lis, Ala-Lis, Fe-Lis, Val-Cit, Fe-Cit, Leu-Cit, Ile-Cit y Trp-Cit.

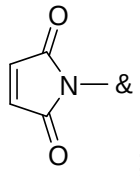
[00588] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **XII**, cada X_1 se selecciona independientemente de p-aminobenziloxicarbonilo (PABC), p-aminobenzil éter (PABE) y etilendiamina metilada (MED).

[00589] En algunas realizaciones, en el compuesto de toxina de unión de la Fórmula general **XII**, m es 1, 2 o 3.

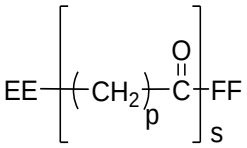
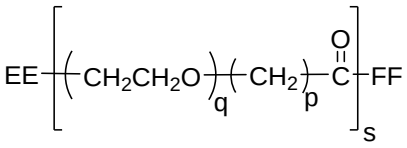
[00590] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **XII**, s es 1.

[00591] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **XII**, o es 0.

[00592] En algunas realizaciones, en el conector de la Fórmula general **XII**:

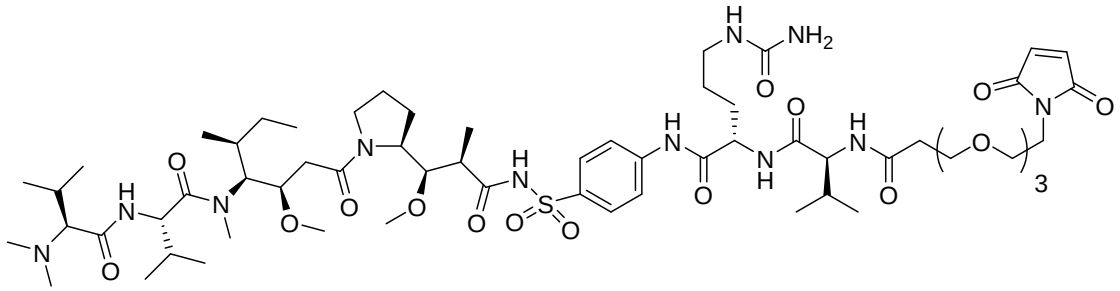
Z es  ;

& representa el punto de unión a $[Str]_s$;

$[Str]_s$ se selecciona de  y  ;

EE y FF representan los puntos de fijación de Z y AA_1, respectivamente; p es un número entero entre 2 y 6; q es un número entero entre 2 y 8; m es 1; AA_1-AA_2 es un dipéptido seleccionado del grupo que consiste en Val-Lis, Ala-Lis, Fe-Lis, Val-Cit, Fe-Cit, Leu-Cit, Ile-Cit y Trp-Cit; s es 1; y o es 0.

[00593] En determinadas realizaciones, el compuesto que comprende el conector de la Fórmula general **XII** tiene la siguiente estructura:



.

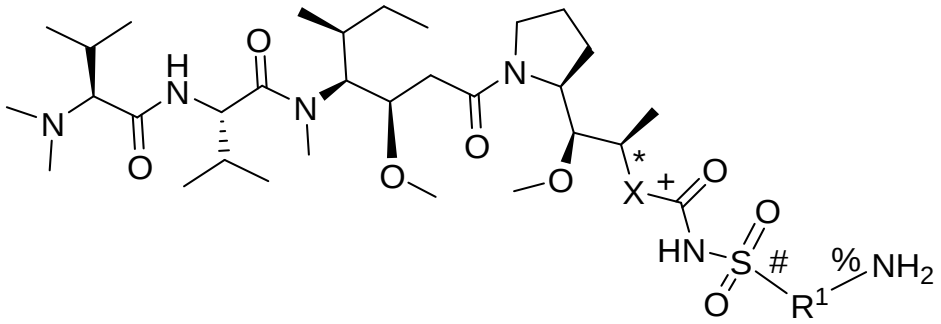
Toxina de Unión A

Métodos para Preparar Conjugados Anticuerpo y Fármaco

[00594] Los ADC se pueden preparar utilizando cualquier método adecuado, como se divulga en la técnica, utilizando reacciones químicas orgánicas, condiciones y reactivos conocidos por los expertos en la técnica, ver, p. ej., *Bioconjugate Techniques,* 2nd Ed., G. T. Hermanson, ed., Elsevier, San Francisco, 2008.

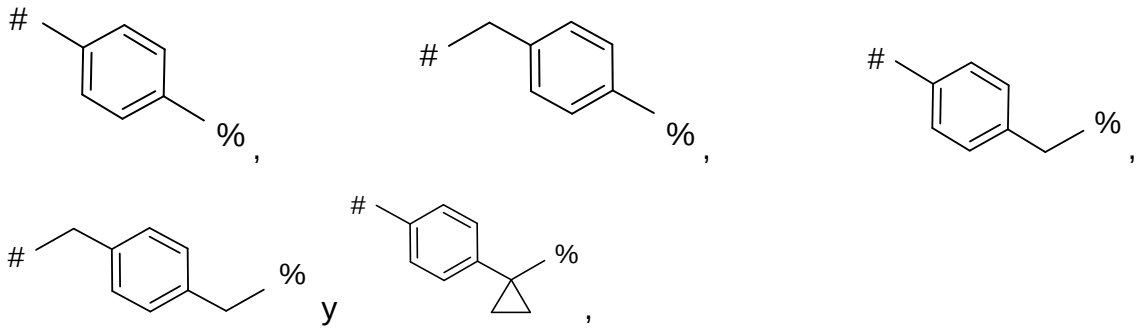
[00595] Por ejemplo, la conjugación se puede lograr mediante (1) la reacción de un grupo nucleofílico o de un grupo electrofílico de un anticuerpo con un conector bifuncional para formar un intermedio anticuerpo-conector Ab-L, a través de un enlace covalente, seguido de una reacción con el agente citotóxico activado (D), o (2) la reacción de un grupo nucleofílico o de un grupo electrofílico de un agente citotóxico con un conector bifuncional para formar un conector-toxina D-L, a través de un enlace covalente, seguido de una reacción con el grupo nucleofílico o un grupo electrofílico del anticuerpo.

[00596] En determinadas realizaciones, en el presente documento, se describe un proceso para preparar un conjugado anticuerpo y fármaco, el proceso comprende: (A) reaccionar un grupo nucleofílico o electrofílico en una proteína de unión al antígeno (Ab) la cual se une al dominio extracelular del Factor Tisular (TF) humano (la SEQ ID n.°: 810) con un conector bifuncional para formar un intermedio Ab-conector y reaccionar el intermedio Ab-conector con el grupo -NH_2 en el derivado de auristatina de la Fórmula general **I**



Fórmula I

donde: X es *-C(O)NHCH(CH_2(R^2))-$^{+}$, donde * y + representan los puntos respectivos de fijación como se indica en la Fórmula **I** o X está ausente; R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



donde # y % representan los respectivos puntos de unión como se indica en la Fórmula **I**; y R^2 es fenilo, para proveer el conjugado anticuerpo fármaco; o (B) reaccionar el grupo -NH_2 en el derivado de auristatina de la Fórmula general **I** con un conector bifuncional para formar un intermedio conector-toxina y reaccionar el intermedio conector-toxina con un grupo nucleofílico o electrofílico en una proteína de unión al antígeno (Ab) la cual se une al dominio extracelular del Factor Tisular (TF) humano (la SEQ ID n.°: 810) para proveer el conjugado anticuerpo y fármaco, donde, en (A) o (B), (a) el Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2 y una VL-CDR3, donde

i. la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 877,

ii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A3,

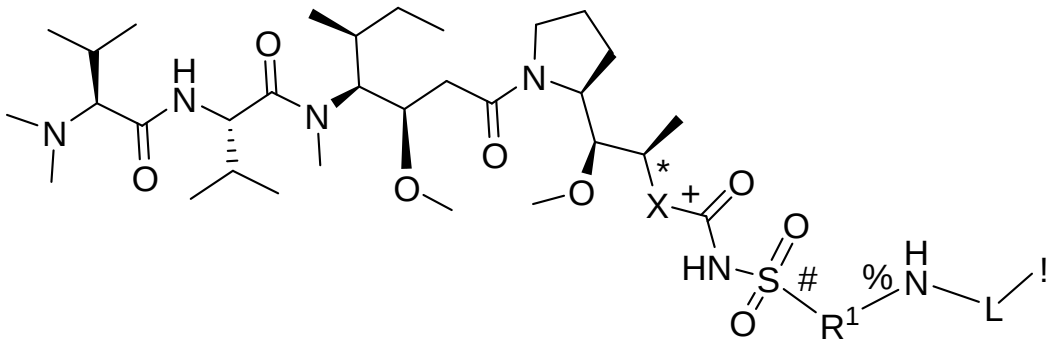
iii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A,

iv. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5,

v. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5-T o

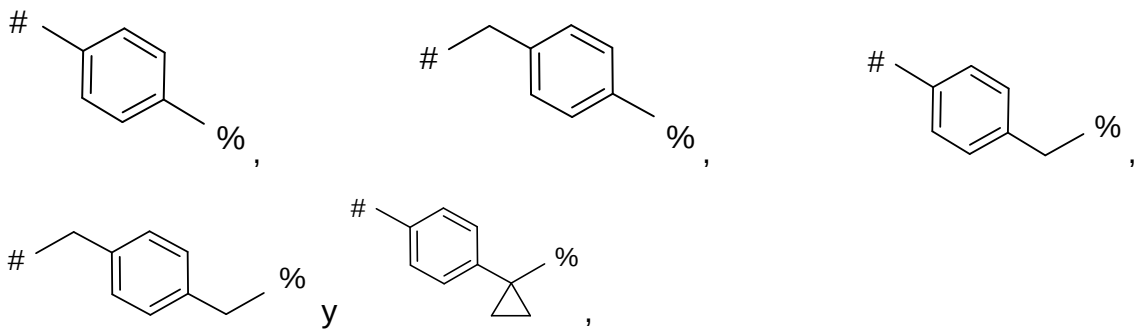
vi. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25G1 y

b) el conjugado de anticuerpos y fármacos comprende una o más fracciones representadas por la Fórmula IV:



Fórmula IV

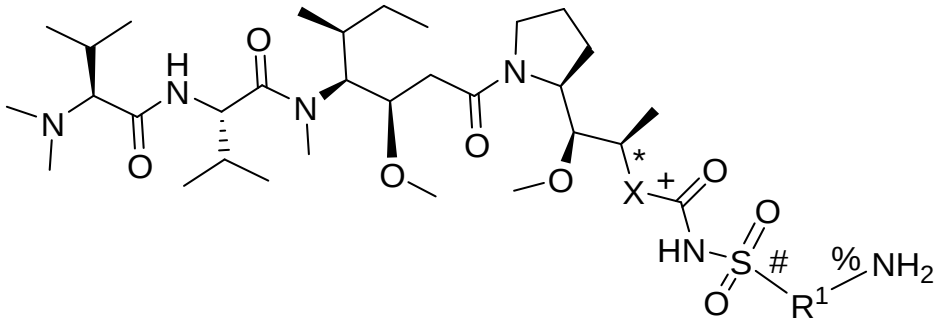
donde: X es *-C(O)NHCH(CH_2(R^2))-$^{+}$, donde * y + representan los respectivos puntos de unión como se indica en la Fórmula **IV** o X está ausente; L es un conector; ! representa el punto de unión de L al Ab, donde L está unido al Ab a través de un enlace covalente; R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



donde # y % representan los puntos respectivos de fijación como se indica en la Fórmula **IV**; y R^2 es fenilo.

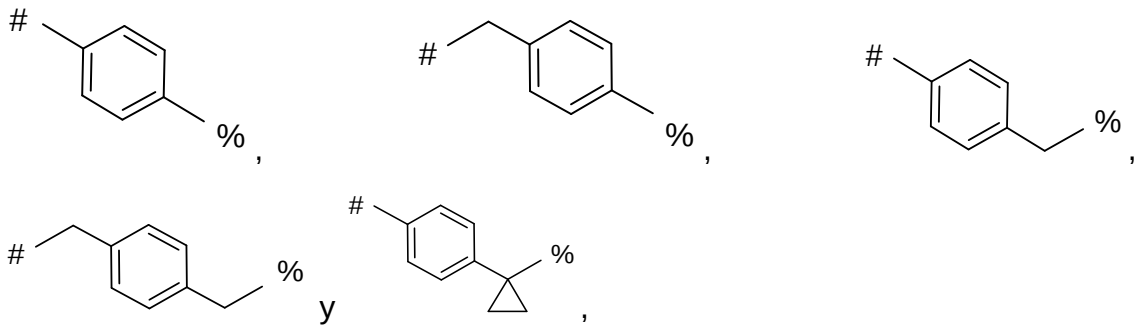
[00597] En determinadas realizaciones, en el presente documento, se describe un proceso para preparar un conjugado anticuerpo y fármaco, el proceso comprende: (A) reaccionar un grupo nucleofílico o electrofílico en una proteína de unión al antígeno (Ab) la cual se une al dominio extracelular del Factor Tisular (TF) humano (la SEQ ID n.°: 810) con un primer componente conector de un conector bifuncional que comprende dos o más componentes conectores

seguidos de la adición secuencial del/de los componente/s conector/es restante/s para formar un intermedio Ab-conector y reaccionar el intermedio Ab-conector con el grupo -NH_2 en el derivado de auristatina de la Fórmula general **I**



Fórmula I

donde: X es *-C(O)NHCH(CH_2(R^2))-$^{+}$, donde * y + representan los puntos respectivos de fijación como se indica en la Fórmula **I** o X está ausente; R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



donde # y % representan los respectivos puntos de unión como se indica en la Fórmula **I**; y R^2 es fenilo, para proveer el conjugado anticuerpo fármaco; o B) reaccionar el grupo -NH_2 en el derivado de auristatina de la Fórmula general **I** con un primer componente conector de un conector bifuncional que comprende dos o más componentes conectores seguidos de la adición secuencial del o de los componentes conectores restantes para formar un intermedio conector-toxina y reaccionar el intermedio conector-toxina con un grupo nucleofílico o electrofílico en una proteína de unión al antígeno (Ab) la cual se une al dominio extracelular del Factor Tisular (TF) humano (la SEQ ID n.°: 810) para proveer el conjugado anticuerpo y fármaco, donde, en (A) o (B), (a) el Ab comprende una

VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2 y una VL-CDR3, donde

vii. la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 877,

viii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A3,

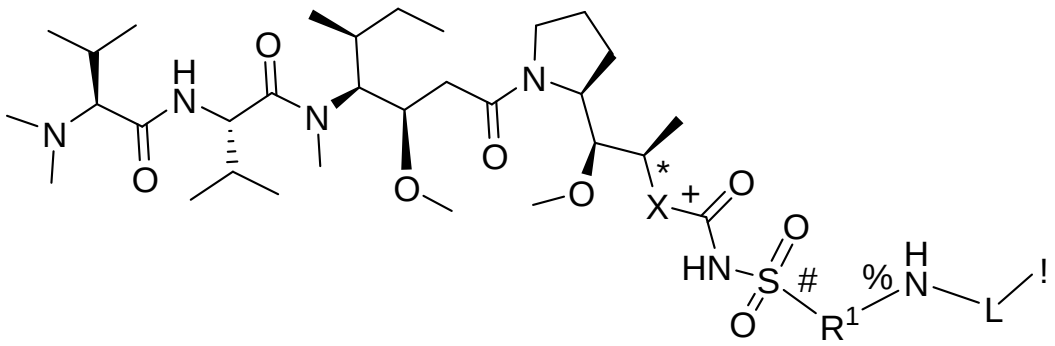
ix. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A,

x. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5,

xi. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5-T o

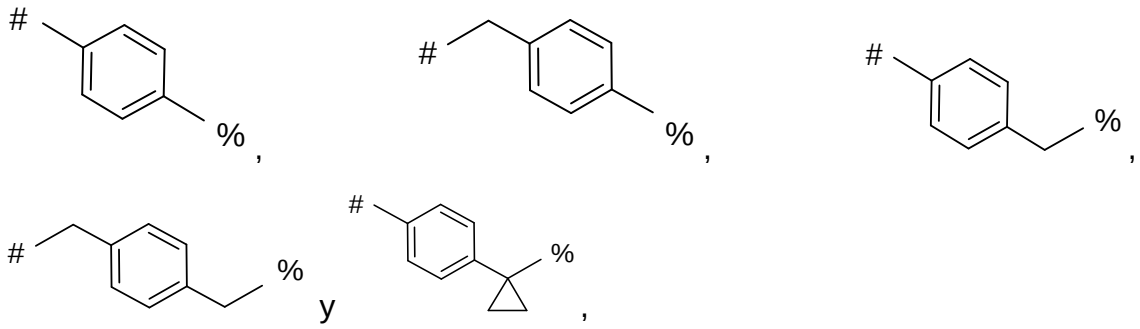
xii. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25G1 y

b) el conjugado de anticuerpos y fármacos comprende una o más fracciones representadas por la Fórmula IV:



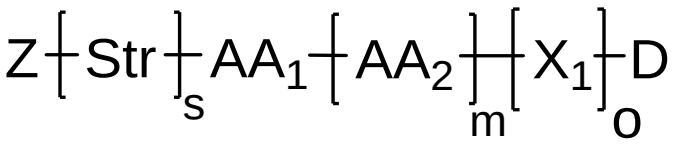
Fórmula IV

donde: X es *-C(O)NHCH(CH_2(R^2))-$^{+}$, donde * y + representan los respectivos puntos de unión como se indica en la Fórmula IV o X está ausente; L es un conector; ! representa el punto de unión de L al Ab, donde L está unido al Ab a través de un enlace covalente; R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



donde # y % representan los puntos respectivos de fijación como se indica en la Fórmula **IV**; y R^2 es fenilo.

[00598] En determinadas realizaciones, el grupo nucleofílico o electrofílico en el Ab es un tiol o una amina. En determinadas realizaciones del proceso para preparar el ADC, el proceso comprende, además, tratar el Ab con un agente reductor para reducir uno o más enlaces disulfuro en el Ab para proveer el grupo tiol nucleofílico. En determinadas realizaciones del proceso para preparar el ADC, L está representado por la Fórmula **VII**:



Fórmula VII

donde: Z representa un grupo funcional que se une a un grupo diana del Ab; D representa el punto de unión al grupo amino como se indica en la Fórmula **I**; Str es un tensor; AA_1 y AA_2 son cada uno un aminoácido independiente, donde AA_1-$[AA_2]_m$ forma un sitio de escisión de proteasa; X_1 es un grupo autodestructivo; s es un número entero seleccionado entre 0 y 1; m es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3 y 4; y o es un número entero seleccionado entre 0, 1 y 2.

[00599] En determinadas realizaciones en las cuales el agente citotóxico es un compuesto de la Fórmula general **I**, los ADC se pueden preparar por un método que comprende (A) (I) reaccionar un grupo nucleofílico o electrofílico en el anticuerpo con un conector bifuncional para formar un intermedio anticuerpo-

conector o (II) reaccionar un grupo nucleofílico o electrofílico en el anticuerpo con un primer componente conector de un conector bifuncional que comprende dos o más componentes conectores seguidos de la adición secuencial del/de los componente/s conector/es restante/s para formar un intermedio anticuerpo-conector y (B) reaccionar el intermedio anticuerpo-conector con el grupo -NH_2 en el compuesto de la Fórmula general **I** para proveer el ADC.

[00600] En determinadas realizaciones en las cuales el agente citotóxico es un compuesto de la Fórmula general **I**, los ADC se pueden preparar por un método que comprende (A) (I) reaccionar el grupo NH_2 en el compuesto de la Fórmula general **I** con un conector bifuncional para formar un intermedio conector-toxina o (II) reaccionar el grupo NH_2 en el compuesto de la Fórmula general **I** con un primer componente conector de un conector bifuncional que comprende dos o más componentes conectores seguidos de la adición secuencial del/de los componente/s conector/es restante/s para formar un intermedio conector-toxina y (B) reaccionar el intermedio conector-toxina con un grupo nucleofílico o electrofílico en el anticuerpo para proveer el conjugado anticuerpo y fármaco.

[00601] En algunas realizaciones, el grupo nucleofílico o electrofílico en el anticuerpo es un tiol (por ejemplo, de un residuo de cisteína en el anticuerpo) o una amina (por ejemplo, de un residuo de lisina en el anticuerpo). En algunas realizaciones, el conector bifuncional tiene la Fórmula general **VII**, la Fórmula general **XI** o la Fórmula general **XI**. Los compuestos de la Fórmula general **I** y los conectores-toxinas que comprenden compuestos de la Fórmula general **I** se pueden preparar mediante protocolos estándares de química orgánica sintética a partir de materiales de partida comercialmente disponibles. Se proveen métodos de ejemplo en la Publicación Internacional de Solicitud de Patente N.º WO 2016/041082 y en la sección de Ejemplos que aparece a continuación.

[00602] En determinadas realizaciones, los ADC de la presente divulgación se preparan mediante la conjugación del agente conector-citotóxico con los residuos de cisteína que se liberaron al reducir los enlaces disulfuro intercadena en el anticuerpo. Los agentes reductores adecuados se conocen en la técnica e

incluyen, por ejemplo, ditiotreitol (DTT), tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP), 2-mercaptoetanol, cisteamina y un número de fosfinas hidrosolubles.

[00603] En algunas realizaciones, los ADC son preparados con técnicas de conjugación de sitio específico, lo que da como resultado un fármaco homogéneo que carga y evita las subpoblaciones de ADC con la unión al antígeno o la farmacocinética alteradas. En algunas realizaciones, los "thiomab" que comprenden sustituciones de cisteína en posiciones en las cadenas pesadas y ligeras son diseñados para proveer grupos de tiol reactivos que no afecten el plegamiento y ensamblaje de la inmunoglobulina o alteren la unión al antígeno (Junutula *et al.*, *J. Immunol. Meth.*, 2008, 332: 41-52; Junutula *et al.*, *Nat. Biotechnol.*, 2008, 26: 925-932). En algunas realizaciones, la selenocisteína se inserta cotraduccionalmente en una secuencia del anticuerpo mediante la recodificación del codón de terminación UGA desde la terminación a la inserción de la selenocisteína, lo que permite la conjugación covalente de sitio específico en el grupo selenol nucleofílico de la selenocisteína en presencia de los otros aminoácidos naturales (*Ver, p. ej.*, Hofer *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2008, 105:12451-12456; Hofer *et al.*, *Biochemistry*, 2009, 48(50):12047-12057). Alternativamente, se puede modificar el anticuerpo para incluir otros aminoácidos no naturales que proveen asas reactivas, tales como p-acetilfenilalanina, formilglicina o p-azidometil-L-fenilalanina (ver, por ejemplo, Axup *et al., PNAS*, 109:16101-16106 (2012); Wu *et al*., PNAS, 106:3000-3005 (2009); Zimmerman *et al*., *Bioconj. Chem*., 25:351-361 (2014)). En determinadas realizaciones, los ADC se sintetizaron como se describe en Behrens *et al.*, *Mol Pharm*, 2015, 12:3986-98.

6. Ensayos

[00604] Se puede utilizar una variedad de ensayos conocidos en la técnica para identificar y caracterizar los anticuerpos anti-TF y los ADC anti-TF provistos en el presente documento.

6.1. Ensayos de Mapeo de Unión, de Competencia y de Epítopo

[00605] La actividad específica de unión al antígeno de los anticuerpos provista en el presente documento se puede evaluar mediante cualquier método adecuado, incluidos SPR, BLI, RIA and MSD-SET, como se describe en otra parte en esta divulgación. Adicionalmente, la actividad de unión al antígeno se puede evaluar mediante ensayos de ELISA y ensayos de inmunotransferencia.

[00606] Los ensayos para medir la competencia entre dos anticuerpos o un anticuerpo y otra molécula (p. ej., uno o más ligandos de TF) se describen en otra parte en esta divulgación y, por ejemplo, en Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* ch.14, 1988, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y, incorporado como referencia en su totalidad.

[00607] Los ensayos para mapear los epítopos a los cuales se unen los anticuerpos provistos en el presente documento se describen, por ejemplo, en Morris “Epitope Mapping Protocols,” en *Methods in Molecular Biology* vol. 66, 1996, Humana Press, Totowa, N.J., incorporado como referencia en su totalidad. En algunas realizaciones, el epítopo se determina por competencia peptídica. En algunas realizaciones, el epítopo se determina por espectrometría de masas. En algunas realizaciones, el epítopo se determina por cristalografía.

6.2. Generación de Trombina, Conversión de FXa y Ensayos de señalización de TF

[00608] Se puede determinar la generación de trombina en presencia de los anticuerpos provistos en el presente documento mediante el Ensayo de Generación de Trombina (TGA), como se describe en otra parte en esta divulgación.

[00609] Los ensayos para medir la conversión de FXa en presencia de los anticuerpos provistos en el presente documento se describe en otra parte en esta divulgación.

[00610] Se puede determinar la inhibición de la señalización de TF mediante la medición de la producción de una citocina regulada por la señalización de TF, tal como IL8 y GM-CSF. Los ensayos para determinar la concentración de IL8 y/o

GM-CSF se proveen en otra parte en esta divulgación y, por ejemplo, en Hjortoe *et al.*, *Blood*, 2004, 103:3029-3037.

6.3. Ensayos para las Funciones Efectoras

[00611] Se puede evaluar la función efectora luego del tratamiento con los anticuerpos provistos en el presente documento utilizando una variedad de ensayos *in vitro* e *in vivo* conocidos en la técnica, incluidos los descritos en Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.*, 1991, 9:457-492; Patente de los EE. UU. n.º 5,500,362, 5,821,337; Hellstrom *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 1986, 83:7059-7063; Hellstrom *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 1985, 82:1499-1502; Bruggemann *et al.*, *J. Exp. Med.*, 1987, 166:1351-1361; Clynes *et al.*, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA*, 1998, 95:652-656; WO 2006/029879; WO 2005/100402; Gazzano-Santoro *et al.*, *J. Immunol. Methods*, 1996, 202:163-171; Cragg *et al.*, *Blood*, 2003, 101:1045-1052; Cragg *et al. Blood*, 2004, 103:2738-2743; and Petkova *et al.*, *Int'l. Immunol.*, 2006, 18:1759-1769; cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad.

6.4. Ensayos de Citotoxicidad y Estudios *In vivo*

[00612] Los ensayos para evaluar la citotoxicidad de los conjugados anticuerpo y fármaco (ADC) provistos en el presente documento se describen en otra parte en esta divulgación.

[00613] Los estudios de xenoinjerto en ratones inmunodeprimidos para evaluar la eficacia *in vivo* de los ADC provistos en el presente documento se describen en otra parte en esta divulgación.

[00614] Los estudios singénicos en ratones inmunocompetentes para evaluar la eficacia *in vivo* de los ADC se incluyen en esta divulgación.

6.5. Ensayos de Inmunohistoquímica (IHC)

[00615] Los ensayos de Inmunohistoquímica (IHC) para evaluar la expresión de TF en muestras de pacientes se describen en otra parte en esta divulgación.

6.6. Ensayos de Mapeo de la Construcción Quimérica y de Unión de Epítopo

[00616] Las diferencias de unión de epítopo entre los anticuerpos anti-TF humano provistos en el presente documento se pueden determinar mediante los experimentos de mapeo de la construcción de TF quimérica y mediante los ensayos de unión de epítopo, como se describe en otra parte en esta divulgación.

7. Composiciones farmacéuticas

[00617] Los anticuerpos o ADC provistos en el presente documento se pueden formular en cualquier composición farmacéutica apropiada y administrar mediante cualquier vía de administración adecuada. Las vías de administración adecuadas incluyen, a mero título enunciativo, las vías intravítrea, intraarterial, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, nasal, parenteral, pulmonar y subcutánea.

[00618] La composición farmacéutica puede comprender uno o más excipientes farmacéuticos. Se puede utilizar cualquier excipiente farmacéutico adecuado y un experto en la técnica es capaz de elegir los excipientes farmacéuticos adecuados. Por consiguiente, los excipientes farmacéuticos provistos a continuación son a modo ilustrativo, no limitante. Los excipientes farmacéuticos adicionales incluyen, por ejemplo, aquellos descritos en el *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Rowe *et al.* (Eds.) 6th Ed. (2009), incorporado como referencia en su totalidad.

7.1. Formas de Dosificación Parenteral

[00619] En determinadas realizaciones, los anticuerpos o ADC provistos en el presente documento se formulan como formas de dosificación parenteral. Las formas de dosificación parenteral se pueden administrar a los sujetos mediante diferentes vías incluidas, a mero título enunciativo, la subcutánea, intravenosa (incluidas infusiones e inyecciones de bolo), intramuscular e intraarterial. Dado que su administración normalmente evita las defensas naturales del sujeto contra contaminantes, las formas de dosificación parenteral son normalmente estériles o capaces de ser esterilizadas antes de ser administradas a un sujeto. Ejemplos de formas de dosificación parenteral incluyen, a mero título enunciativo, soluciones listas para la inyección, productos secos (p. ej., liofilizado) listos para

prepararse en disolución o suspensión en un vehículo farmacéuticamente aceptable para la inyección, suspensiones listas para la inyección y emulsiones.

8. Dosificación y Formas de Dosis Unitaria

[00620] En la terapéutica humana, el médico determinará la posología que considere más apropiada según un tratamiento preventivo o curativo y según la edad, el peso, la afección y otros factores específicos del sujeto a ser tratado.

[00621] En determinadas realizaciones, una composición provista en el presente documento es una composición farmacéutica o una forma única de dosis unitaria. Composiciones farmacéuticas o formas únicas de dosis unitarias provistas en el presente documento comprenden una cantidad profiláctica o terapéuticamente eficaz de uno o más anticuerpos profilácticos o terapéuticos o ADC.

[00622] La cantidad del anticuerpo/ADC o composición que será eficaz en la prevención o en el tratamiento de un trastorno o de uno o más síntomas de este puede variar según la naturaleza y severidad de la enfermedad o afección y según la vía por la cual se administra el anticuerpo/ADC. La frecuencia y la dosis también pueden variar según factores específicos para cada sujeto dependiendo de la terapia específica administrada (p. ej., agentes terapéuticos o profilácticos), la severidad del trastorno, enfermedad o afección, la vía de administración, así como también de la edad, el peso corporal, la respuesta y la historia médica pasada del sujeto. Las dosis eficaces se pueden extrapolar de las curvas dosis-respuesta derivadas de sistemas de análisis *in vitro* o en animales.

[00623] Diferentes cantidades terapéuticamente eficaces pueden ser aplicables para diferentes enfermedades y afecciones, como ya lo saben los expertos en la técnica. De manera similar, las cantidades suficientes para prevenir, regular, tratar o aliviar dichos trastornos, pero insuficientes para causar los efectos adversos asociados con los anticuerpos o ADC provistos en el presente documento o suficientes para reducir dichos efectos adversos también están abarcadas por las cantidades de dosis y los cronogramas de frecuencia de dosis provistas en el presente documento. Además, cuando se administran numerosas dosis a un sujeto para una composición provista en el presente documento, no

todas las dosis deben ser iguales. Por ejemplo, la dosis administrada al sujeto se puede incrementar para mejorar el efecto profiláctico o terapéutico de la composición o se puede reducir para disminuir uno o más efectos secundarios que un sujeto en particular experimenta.

[00624] Como se analiza con mayor detalle en otra parte en esta divulgación, un anticuerpo o ADC provisto en el presente documento puede, opcionalmente, ser administrado con uno o más agentes adicionales útiles para prevenir o tratar una enfermedad o trastorno. La cantidad eficaz de dichos agentes adicionales puede depender de la cantidad de ADC presente en la formulación, del tipo de trastorno o de tratamiento y de otros factores conocidos en la técnica o descritos en el presente documento.

9. Aplicaciones terapéuticas

[00625] Para aplicaciones terapéuticas, los anticuerpos o ADC de la invención se administran a un mamífero, generalmente un humano, en una forma de dosis farmacéuticamente aceptable, tales como las conocidas en la técnica y las analizadas anteriormente. Por ejemplo, los anticuerpos o ADC de la invención se pueden administrar a un humano vía intravenosa como un bolo o por infusión continua, durante un período de tiempo, por vías intravítrea, intramuscular, intraperitoneal, intracerebroespinal, subcutánea, intraarticular, intrasinovial, intratecal o intratumoral. Los anticuerpos o ADC también son adecuados para administrarse por vía peritumorales, intralesionales o perilesionales para ejercer efectos terapéuticos locales, así como sistémicos. La vía intraperitoneal puede ser particularmente útil, por ejemplo, en el tratamiento de tumores de ovario.

[00626] Los anticuerpos o ADC provistos en el presente documento pueden ser útiles para el tratamiento de cualquier enfermedad o afección que involucre TF. En algunas realizaciones, la enfermedad o afección es una enfermedad o afección que puede beneficiarse del tratamiento con un anticuerpo anti-TF o ADC.

[00627] En algunas realizaciones, los anticuerpos o ADC provistos en el presente documento se proveen para utilizarse como un medicamento. En

algunas realizaciones, los anticuerpos o ADC provistos en el presente documento se proveen para utilizarse en la fabricación o preparación de un medicamento. En algunas realizaciones, el medicamento es para el tratamiento de una enfermedad o afección que puede beneficiarse con un anticuerpo anti-TF o ADC.

[00628] En algunas realizaciones, en el presente documento, se provee un método para tratar, en un sujeto que lo necesita, una enfermedad o afección mediante la administración de una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-TF o ADC provisto en el presente documento al sujeto.

[00629] En algunas realizaciones, la enfermedad o afección que puede beneficiarse del tratamiento con un anticuerpo anti-TF o ADC es cáncer. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-TF o ADC provistos en el presente documento se proveen para utilizarse como un medicamento para el tratamiento de cáncer. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-TF o ADC provistos en el presente documento se proveen para utilizarse en la fabricación o preparación de un medicamento para el tratamiento de cáncer. En algunas realizaciones, en el presente documento, se provee un método para tratar, en un sujeto que lo necesita, el cáncer mediante la administración de una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-TF o ADC provisto en el presente documento al sujeto.

[00630] TF está involucrado en trombosis, metástasis, crecimiento tumoral y/o angiogénesis tumoral de diferentes tipos de cáncer, tales como cáncer de ovario (*Ver* Sakurai *et al.*, *Int J Gynecol Cancer*, 2017, 27:37-43; Koizume *et al.*, *Biomark Cancer*, 2015, 7:1-13; cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad), cáncer de cuello uterino (*Ver* Cocco *et al.*, *BMC Cancer*, 2011, 11:263, incorporado como referencia en su totalidad), cáncer de cabeza y cuello (*Ver* Christensen *et al.*, *BMC Cancer*, 2017, 17:572, incorporado como referencia en su totalidad), cáncer de próstata (*Ver* Yao *et al.*, *Cancer Invest.*, 2009, 27:430-434; Abdulkadir *et al.*, *Hum Pathol.*, 2009, 31:443-447; cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad), cáncer de páncreas (*Ver* Zhang *et al.*, *Oncotarget*, 2017, 8:59086-59102, incorporado como referencia en su

totalidad), cáncer de mama triple negativo (*Ver* Zhang *et al.*, *Oncotarget*, 2017, 8:59086-59102, incorporado como referencia en su totalidad), glioblastoma (*Ver* Guan *et al.*, *Clin Biochem.*, 2002, 35:321-325; Carneiro-Lobo *et al.*, *J Thromb Haemost*, 2009, 7:1855-1864; cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad), cáncer de pulmón (*Ver* Yeh *et al.*, *PLoS One*, 2013, 8:e75287; Regina *et al.*, *Clin Chem.*, 2009, 55:1834-42; cada uno de los cuales se incorpora como referencia en su totalidad), cáncer gástrico (*Ver* Lo *et al.*, *Br J Cancer.*, 2012, 107:1125-1130, incorporado como referencia en su totalidad), cáncer de esófago (*Ver* Chen *et al.*, *Acta Histochem.*, 2010, 3:233-239, incorporado como referencia en su totalidad), cáncer de vejiga (*Ver* Patry *et al.*, *Int J Cancer.*, 2008, 122:1592-1597, incorporado como referencia en su totalidad), melanoma (*Ver* Bromberg *et al.*, *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 1995, 92:8205-8209, incorporado como referencia en su totalidad) y cáncer de riñón (*Ver* Silva *et al.*, *Int Braz J Urol.*, 2014, 40:499-506, incorporado como referencia en su totalidad).

[00631] Cualquier cáncer adecuado puede tratarse con los anticuerpos o ADC provistos en el presente documento. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de cabeza y cuello. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de ovario. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer gástrico. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de esófago. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de cuello uterino. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de próstata. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de páncreas. En algunas realizaciones, el cáncer es de receptores de estrógeno negativos (ER-), de receptores de progesterona negativos (PR-) y HER2 negativo (HER2-) cáncer de mama triple negativo. En algunas realizaciones, el cáncer es glioblastoma. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de pulmón. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de vejiga. En algunas realizaciones, el cáncer es melanoma. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de riñón. En algunas realizaciones, el cáncer es melanoma ocular. Información adicional sobre los tipos de cáncer que se pueden tratar con anticuerpos anti-TF o ADC se provee en van den Berg

et al., *Blood*, 2012, 119:924-932, el cual se incorpora como referencia en su totalidad.

[00632] En algunas realizaciones, en el presente documento, se provee un método para retrasar, en un sujeto que lo necesita, el comienzo de un cáncer mediante la administración de una cantidad eficaz de un anticuerpo o ADC provisto en el presente documento al sujeto. En algunas realizaciones, en el presente documento, se provee, en un sujeto que lo necesita, un método para el tratamiento de intervención tardía del cáncer. Por ejemplo, el ADC puede reducir, en un sujeto que lo necesita, el tamaño de un tumor (p. ej., volumen del tumor) o inhibir, en un sujeto que lo necesita, el crecimiento tumoral.

[00633] En algunas realizaciones, en el presente documento, se provee un método para prevenir, en un sujeto que lo necesita, el comienzo de un cáncer mediante la administración de una cantidad eficaz de un anticuerpo o ADC provisto en el presente documento al sujeto.

[00634] En algunas realizaciones, en el presente documento, se provee un método para reducir, en un sujeto que lo necesita, el tamaño de un tumor (p. ej., volumen del tumor) mediante la administración de una cantidad eficaz de un anticuerpo o ADC provisto en el presente documento al sujeto. En algunas realizaciones, un ADC provisto en el presente documento reduce el tamaño del tumor (p. ej., volumen del tumor) en al menos, aproximadamente, un 5%, aproximadamente, un 10%, aproximadamente, un 15%, aproximadamente, un 20%, aproximadamente, un 25%, aproximadamente, un 30%, aproximadamente, un 35%, aproximadamente, un 40%, aproximadamente, un 45%, aproximadamente, un 50%, aproximadamente, un 55%, aproximadamente, un 60%, aproximadamente, un 65%, aproximadamente, un 70%, aproximadamente, un 75%, aproximadamente, un 80%, aproximadamente, un 85%, aproximadamente, un 90%, aproximadamente, un 95% o, aproximadamente, un 99%. En algunas realizaciones, un ADC provisto en el presente documento inhibe el crecimiento tumoral en al menos, aproximadamente, un 5%, aproximadamente, un 10%, aproximadamente, un 15%, aproximadamente, un

20%, aproximadamente, un 25%, aproximadamente, un 30%, aproximadamente, un 35%, aproximadamente, un 40%, aproximadamente, un 45%, aproximadamente, un 50%, aproximadamente, un 55%, aproximadamente, un 60%, aproximadamente, un 65%, aproximadamente, un 70%, aproximadamente, un 75%, aproximadamente, un 80%, aproximadamente, un 85%, aproximadamente, un 90%, aproximadamente, un 95% o, aproximadamente, un 99%.

[00635] En algunas realizaciones, en el presente documento, se provee un método para reducir, en un sujeto que lo necesita, el número de metástasis mediante la administración de una cantidad eficaz de un anticuerpo o ADC provisto en el presente documento al sujeto.

[00636] En algunas realizaciones, en el presente documento, se provee un método para extender, en un sujeto que lo necesita, el período de supervivencia en general, la mediana de tiempo de supervivencia o la supervivencia sin progresión mediante la administración de una cantidad eficaz de un anticuerpo o ADC provisto en el presente documento al sujeto.

[00637] En algunas realizaciones, en el presente documento, se provee un método para tratar a un sujeto que se ha vuelto resistente al tratamiento terapéutico habitual mediante la administración de una cantidad eficaz de un anticuerpo o ADC provisto en el presente documento al sujeto.

[00638] En algunas realizaciones, la enfermedad o afección que puede mejorar con el tratamiento con un anticuerpo anti-TF o ADC es una enfermedad o afección que involucra neovascularización. En determinadas realizaciones, la enfermedad o afección que involucra neovascularización es cáncer. En algunas realizaciones, la enfermedad o afección que puede mejorar con el tratamiento con un anticuerpo anti-TF o ADC es una enfermedad o afección que involucra inflamación vascular.

[00639] En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-TF y ADC provistos en el presente documento se proveen para utilizarse como un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o afección que involucra neovascularización. En

algunas realizaciones, los anticuerpos anti-TF y ADC provistos en el presente documento se proveen para utilizarse en la fabricación o preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o afección que involucra neovascularización. En determinadas realizaciones, la enfermedad o afección que involucra neovascularización es cáncer. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-TF y ADC provistos en el presente documento se proveen para utilizarse como un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o afección que involucra inflamación vascular. En algunas realizaciones, los anticuerpos anti-TF y ADC provistos en el presente documento se proveen para utilizarse en la fabricación o preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o afección que involucra inflamación vascular.

[00640] En algunas realizaciones, en el presente documento, se provee un método para tratar, en un sujeto que lo necesita, una enfermedad o afección que involucra neovascularización mediante la administración de una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-TF o ADC provistos en el presente documento al sujeto. En determinadas realizaciones, la enfermedad o afección que involucra neovascularización es cáncer. En algunas realizaciones, en el presente documento, se provee un método para tratar, en un sujeto que lo necesita, una enfermedad o afección que involucra inflamación vascular mediante la administración de una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-TF o ADC provistos en el presente documento al sujeto.

[00641] En algunas realizaciones, en el presente documento, se provee un método para retrasar, en un sujeto que lo necesita, el comienzo de una enfermedad o afección que involucra neovascularización mediante la administración de una cantidad eficaz de un anticuerpo o ADC provisto en el presente documento al sujeto.

[00642] En algunas realizaciones, en el presente documento, se provee un método para prevenir, en un sujeto que lo necesita, el comienzo de una enfermedad o afección que involucra neovascularización mediante la

administración de una cantidad eficaz de un anticuerpo o ADC provisto en el presente documento al sujeto.

[00643] En algunas realizaciones, en el presente documento, se provee un método para retrasar, en un sujeto que lo necesita, el comienzo de una enfermedad o afección que involucra inflamación vascular mediante la administración de una cantidad eficaz de un anticuerpo o ADC provisto en el presente documento al sujeto.

[00644] En algunas realizaciones, en el presente documento, se provee un método para prevenir, en un sujeto que lo necesita, el comienzo de una enfermedad o afección que involucra inflamación vascular mediante la administración de una cantidad eficaz de un anticuerpo o ADC provisto en el presente documento al sujeto.

[00645] En algunas realizaciones, un ADC provisto en el presente documento, luego de ser administrado a un sujeto, es bien tolerado por el sujeto. En algunas realizaciones, un ADC provisto en el presente documento, luego de ser administrado a un sujeto, tiene mejor tolerabilidad en comparación con otros ADC anti-TF, tales como 25A3 clon unido a MMAE. Por ejemplo, el ADC puede dar como resultado toxicidad cutánea reducida, p. ej., en comparación con los otros ADC anti-TF. Los indicadores en toxicidad cutánea incluyen, sin limitación, irritación cutánea, ulceración cutánea, erupción cutánea, inflamación cutánea, picazón, rascado, agrietamiento, dolencia, sensibilidad aumentada a la luz o la exposición solar, entumecimiento, sensación de ardor, hormigueo, protuberancias, ampollas, urticaria, descamación y dolor.

[00646] En algunas realizaciones, uno o más ADC provistos en el presente documento, luego de ser administrados a un sujeto, no requiere administración de uno o más agentes antiinflamatorios (p. ej., un esteroide, p. ej., ya sea tópico o sistémico). En algunos aspectos uno o más ADC provistos en el presente documento, luego de ser administrados a un sujeto, dan como resultado una necesidad reducida de administrar uno o más agentes antiinflamatorios (p. ej.,

un esteroide, p. ej., ya sea tópico o sistémico), en comparación con otros ADC anti-TF, tales como 25A3 clon unido a MMAE.

[00647] En algunas realizaciones, un ADC provisto en el presente documento, luego de ser administrado a un sujeto, da como resultado una toxicidad del hígado baja o inexistente, p. ej., en comparación con el valor basal o en comparación con un ADC anti-TF diferente. En algunas realizaciones, un ADC provisto en el presente documento, luego de ser administrado a un sujeto, da como resultado una toxicidad del hígado reducida en comparación con otros ADC anti-TF, tales como 25A3 clon unido a MMAE. Esto se puede evaluar, p. ej., utilizando marcadores para daño hepático. Ejemplos no limitantes de marcadores para daño hepático incluyen, albúmina, bilirrubina, globulina, gamma-glutamil-transferasa (γGT o GGT), glutamato-piruvato transaminasa (GPT), fosfatasa alcalina (ALP), alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), AST a índice de relación plaquetaria (APRI), Fibrosis hepática mejorada (ELF), Fibrosis 4 (FIB-4) y Fibro índice. Por ejemplo, una reducción del daño hepático o una reducción de la progresión del daño hepático se mide mediante una reducción de la concentración de ALP, AST, ALT, γGT o bilirrubina en suero.

[00648] En algunas realizaciones, un ADC provisto en el presente documento, luego de ser administrado a un sujeto, el conjugado anticuerpo y fármaco no incrementa la concentración de aspartato aminotransferasa (AST) en el sujeto en comparación con el valor de concentración basal. En algunas realizaciones, un ADC provisto en el presente documento, luego de ser administrado a un sujeto, da como resultado una concentración reducida de aspartato aminotransferasa (AST) en el sujeto en comparación con el valor de concentración basal o en comparación con un ADC anti-TF diferente. En algunas realizaciones, un ADC provisto en el presente documento, luego de ser administrado a un sujeto, no incrementa la concentración de alanina transaminasa en el sujeto, en comparación con el valor de concentración basal. En algunas realizaciones, un ADC provisto en el presente documento, luego de

ser administrados a un sujeto, resulta una concentración reducida de alanina transaminasa en el sujeto, en comparación con el valor de concentración basal o en comparación con un ADC anti-TF diferente.

[00649] En algunas realizaciones, un ADC provisto en el presente documento, luego de ser administrado a un sujeto, da como resultado neutropenia baja o inexistente, p. ej., en comparación con el valor basal. Esto puede ser en comparación con un conjugado anticuerpo anti-TF-fármaco, tal como 25A3 clon unido a MMAE.

[00650] En algunas realizaciones, un ADC provisto en el presente documento, luego de ser administrado a un sujeto, no altera, incrementa o disminuye el número de monocitos en un sujeto, p. ej., en comparación con el valor basal. Esto puede ser en comparación con un conjugado anticuerpo anti-TF-fármaco, tal como 25A3 clon unido a MMAE.

[00651] Ejemplos no limitantes de agentes antiinflamatorios incluyen fármacos antiinflamatorios no esteroides (NSAID), fármacos antiinflamatorios esteroides, antagonistas beta, agentes anticolinérgicos, antihistamínicos (p. ej., etanolaminas, etilendiaminas, piperazinas y fenotiazina) y metilxantinas. Ejemplos de NSAID incluyen, a mero título enunciativo, aspirina, ibuprofeno, salicilatos, acetominofeno, celecoxib, diclofenaco, etodolaco, fenoprofeno, indometacina, ketorolaco, oxaprozina, nabumentona, sulindaco, tolmentina, rofecoxib, naproxeno, ketoprofeno y nabumetona. Dichos NSAID funcionan mediante la inhibición de una enzima ciclooxigenasa (p. ej., COX-1 y/o COX-2). Ejemplos de fármacos antiinflamatorios esteroides incluyen, a mero título enunciativo, glucocorticoides, dexametasona, cortisona, hidrocortisona, prednisona, prednisolona, triamcinolona, azulfidina y eicosanoides, tales como prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos. Estos agentes antiinflamatorios pueden ser tópicos o sistémicos.

[00652] Los agentes antiinflamatorios y sus dosis, vías de administración y usos recomendados son conocidos en la técnica y se describieron en bibliografía, tal como el Physician's Desk Reference (60th ed., 2006).

10. Tratamientos combinados

[00653] En algunas realizaciones, un anticuerpo o ADC proporcionados en el presente documento se administran con al menos un agente terapéutico adicional. Cualquier agente terapéutico adicional adecuado puede administrarse con un anticuerpo o ADC provisto en el presente documento. En algunos aspectos, el agente terapéutico adicional se selecciona de radiación, un agente citotóxico, un agente quimioterapéutico, un agente citostático, un agente antihormonal, un agente inmunoestimulador, un agente antiangiogénico y combinaciones de estos.

[00654] El agente terapéutico adicional puede administrarse por cualquier medio adecuado. En algunas realizaciones, un anticuerpo o ADC proporcionados en el presente documento y el agente terapéutico adicional se incluyen en la misma composición farmacéutica. En algunas realizaciones, un anticuerpo o ADC proporcionados en el presente documento y el agente terapéutico adicional se incluyen en diferentes composiciones farmacéuticas.

[00655] En realizaciones en las que un anticuerpo o ADC proporcionados en el presente documento y el agente terapéutico adicional se incluyen en diferentes composiciones farmacéuticas, la administración del anticuerpo o del ADC puede ocurrir antes, al mismo tiempo y/o después de la administración del agente terapéutico adicional.

11. Métodos de Diagnóstico

[00656] También se proveen métodos para detectar la presencia de TF en células del sujeto. Dichos métodos se pueden utilizar, por ejemplo, para predecir y evaluar la capacidad de respuesta al tratamiento con un anticuerpo o ADC provistos en el presente documento.

[00657] En algunas realizaciones, el método se puede utilizar para detectar TF en un sujeto que tiene o se sospecha que tiene una enfermedad o afección. En algunas realizaciones, el método comprende (a) recibir una muestra del sujeto; y (b) detectar la presencia o la concentración de TF en la muestra mediante el contacto de la muestra con el anticuerpo provisto en el presente documento. En

algunas realizaciones, los métodos comprenden (a) administrar al sujeto el anticuerpo provisto en el presente documento; y (b) detectar la presencia o la concentración de TF en el sujeto. En algunas realizaciones, la enfermedad o afección es un cáncer. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de cabeza y cuello. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de ovario. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer gástrico. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de esófago. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de cuello uterino. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de próstata. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de páncreas. En algunas realizaciones, el cáncer es de receptores de estrógeno negativos (ER-), de receptores de progesterona negativos (PR-) y HER2 negativo (HER2-) cáncer de mama triple negativo. En algunas realizaciones, el cáncer es glioblastoma. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de pulmón. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de vejiga. En algunas realizaciones, el cáncer es melanoma. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de riñón. En algunas realizaciones, la enfermedad o afección involucra la neovascularización. En determinadas realizaciones, la enfermedad o afección que involucra neovascularización es cáncer. En algunas realizaciones, la enfermedad o afección involucra la inflamación vascular.

[00658] En algunas realizaciones, los métodos comprenden (a) administrar al sujeto el ADC provisto en el presente documento; y (b) detectar la presencia o la concentración de TF en el sujeto. En algunas realizaciones, la enfermedad o afección es un cáncer. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de cabeza y cuello. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de ovario. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer gástrico. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de esófago. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de cuello uterino. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de próstata. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de páncreas. En algunas realizaciones, el cáncer es de receptores de estrógeno negativos (ER-), de receptores de progesterona negativos (PR-) y HER2 negativo (HER2-) cáncer de mama triple

negativo. En algunas realizaciones, el cáncer es glioblastoma. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de pulmón. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de vejiga. En algunas realizaciones, el cáncer es melanoma. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de riñón.

[00659] En algunas realizaciones, el anticuerpo proporcionado en el presente documento está conjugado con un marcador fluorescente. En algunas realizaciones, el anticuerpo proporcionado en el presente documento está conjugado con un marcador radioactivo. En algunas realizaciones, el anticuerpo proporcionado en el presente documento está conjugado con un marcador enzimático.

[00660] En algunas realizaciones, el ADC proporcionado en el presente documento comprende un marcador fluorescente. En algunas realizaciones, el ADC proporcionado en el presente documento comprende un marcador radioactivo. En algunas realizaciones, el ADC proporcionado en el presente documento comprende un marcador enzimático.

[00661] En algunas realizaciones, se determina la cantidad relativa de TF expresada por dichas células. La fracción de células que expresan TF y la cantidad relativa de TF expresada por dichas células se pueden determinar mediante cualquier método adecuado. En algunas realizaciones, se utiliza la citometría de flujo para realizar dichas mediciones. En algunas realizaciones, se utiliza la clasificación celular activada por fluorescencia (FACS) para realizar dichas mediciones.

12. Kits

[00662] También se proveen equipos que comprenden los anticuerpos o ADC provistos en el presente documento. Los kits se pueden utilizar para el tratamiento, prevención y/o diagnóstico de una enfermedad o trastorno, como se describe en el presente documento.

[00663] En algunas realizaciones, el kit comprende un envase y una etiqueta o prospecto en el envase o asociado a él. Los envases adecuados incluyen, por ejemplo, frascos, viales, jeringas y bolsas de solución IV. Los envases pueden

estar formados a partir de varios materiales, tales como vidrio o plástico. El envase contiene una composición que es por sí misma o cuando se la combina con otra composición eficaz para tratar, prevenir y/o diagnosticar una enfermedad o trastorno. El envase puede tener un puerto de acceso estéril. Por ejemplo, si el envase es una bolsa de solución intravenosa o un vial, puede tener un puerto que se puede perforar con una aguja. Al menos un agente activo en la composición es un anticuerpo o ADC provisto en el presente documento. La etiqueta o prospecto indica que la composición se utiliza para tratar la afección seleccionada.

[00664] En algunas realizaciones, el equipo comprende (a) un primer envase con una primera composición contenida en este, donde la primera composición comprende un anticuerpo o un ADC proporcionado en el presente documento; y (b) un segundo envase con una segunda composición contenida en este, donde la segunda composición comprende otro agente terapéutico. El equipo en esta realización de la invención además puede comprender un prospecto que indica que las composiciones se pueden utilizar para tratar una afección en particular.

[00665] Alternativamente, o adicionalmente, el equipo además puede comprender un segundo (o tercer) envase que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunos aspectos, el excipiente es un tampón. El equipo además puede incluir otros materiales que se desean desde un punto de vista comercial y del usuario, incluidos filtros, agujas y jeringas.

EJEMPLOS

[00666] Los siguientes son ejemplos de métodos y composiciones de la invención. Se comprende que se pueden practicar varias otras realizaciones, debido a la descripción general que se proporciona en el presente documento.

[00667] A continuación, se presentan ejemplos de realizaciones específicas para llevar a cabo la presente invención. Los ejemplos se ofrecen con fines ilustrativos solamente y no pretenden limitar el alcance de la presente invención de ninguna manera. Se hizo todo lo posible por garantizar la exactitud con respecto a los

números utilizados (*p. ej.*, cantidades, temperaturas, etc.), pero, por supuesto, se deberían aceptar algunos errores y desviaciones experimentales.

[00668] La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique lo contrario, métodos convencionales de química de proteínas, bioquímica, técnicas de DNA recombinante y farmacología, dentro de las capacidades de la técnica. Dichas técnicas se explican completamente en la bibliografía. *Ver*, p. ej., T.E. Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties* (W.H. Freeman and Company, 1993); A.L. Lehninger, *Biochemistry* (Worth Publishers, Inc., current addition); Sambrook, *et al.*, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (2nd Edition, 1989); *Methods In Enzymology* (S. Colowick and N. Kaplan eds., Academic Press, Inc.); *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18th Edition (Easton, Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1990); Carey and Sundberg *Advanced Organic Chemistry 3rd Ed.* (Plenum Press) Vols A and B(1992).

Ejemplo 1: Síntesis de conjugados anticuerpo y fármaco (ADC)

[00669] Los conjugados anticuerpo y fármaco (ADC) de anticuerpos anti-FT y enlace-toxina A (también referido en el presente documento como “LT-A”) se prepararon conforme se describe a continuación. La estructura del enlace-toxina A, sin enlazar, se muestra en la **FIGURA 1**. Los anticuerpos anti-FT se describen en PCT/US2019/12427, presentada el 4 de enero de 2019; incorporada en el presente documento como referencia en su totalidad para todos los propósitos.

[00670] Brevemente, se disminuyeron 5 mg/mL a 10 mg/mL de anticuerpo 25A3 (*ver* la Tabla 8 para ver las secuencias CDR y la región V del clon 25A3) en solución salina tamponada con fosfato (PBS), con pH de 7,4 mediante la adición de Tris(2-carboxietil)fosfina (equivalentes molares de 2,0-2,5 o 3,2) y una concentración final de 0,8 mM de ácido dietilentriaminopentaacético. Después de 2 horas a 37 °C, el anticuerpo parcialmente reducido se enfrió en hielo durante 10 minutos, luego se conjugó durante 1 hora con 8 equivalentes molares de enlace-toxina A en hielo. La reacción se desactivó con un exceso de N-acetil-L-cisteína. Se dejó que la reacción desactivada reposara en hielo durante 30 minutos antes de la purificación. Se purificaron los ADC a través de dos rondas

de columnas de desalinización Zeba™ Spin con MWCO de 40 kDa (columnas de 10 mL, n.º de producto 8772, n.º de lote RL240689) cada uno, según el protocolo del fabricante. Antes de la purificación, se cebaron ambos conjuntos de columnas con PBS estéril. El ADC se purificó mediante un conjunto de columnas cebadas con PBS primero y luego se extrajo y purificó la muestra una segunda vez a través del otro conjunto. Después de la segunda purificación, se volvió a combinar el ADC y se filtró mediante esterilización y se congeló a –80 °C.

[00671] La proporción fármaco-anticuerpo (DAR) se puede medir mediante espectroscopia UV/vis, cromatografía de interacción hidrofóbica (HIC) y/o separación por cromatografía líquida de fase inversa con detección de tiempo de vuelo y caracterización de masas (RP-UPLC/espectrometría de masas), conforme se describe en WO 2016/041082. La distribución de las formas unidas al fármaco (por ejemplo, la fracción de las especies DAR0, DARl, DAR2, etc.) también se puede analizar mediante diversas técnicas conocidas en la materia, incluida la MS (con o sin un paso de separación cromatográfica de acompañamiento), cromatografía de interacción hidrofóbica, HPLC de fase inversa o electroforesis en gel con enfoque isoeléctrico (IEF), como también se describe en WO 2016/041082.

[00672] Para este ejemplo, la proporción fármaco-anticuerpo (DAR) de los ADC resultantes fue ~3. La DAR se determinó mediante cromatografía de interacción hidrofóbica: DAR promedio = (0 × (% del área de DAR0) + 2 × (% del área de DAR2) + 4 × (% del área de DAR4) + 6 × (% del área de DAR6) + 8 × (% del área de DAR8)/100. Se utilizó cromatografía de exclusión por tamaño para garantizar que la preparación del ADC fuera al menos un 95% monomérica.

[00673] Se muestra una representación de un ADC que comprende LT-A en la **FIGURA 2**. Se utilizaron ADC que comprenden 25A3 y LT-A, p. ej. según se preparan en este ejemplo en los ensayos y estudios de los Ejemplos 2 a 8 a continuación.

Ejemplo 2: Ensayos de citotoxicidad de conjugados anticuerpo y fármaco (ADC)

[00674] Para evaluar la citotoxicidad de los ADC, se colocaron células A431 positivas para TF en placas de 384 pocillos (Greiner Bio-One, Monroe, NC, EE. UU.) a 4×10^3 células por pocillo en 40 µL de medios. Un ADC que comprende el anticuerpo anti-FT 25A3 o un anticuerpo de control de isótopo conjugado con enlace-toxina A se prepararon como se describe en el Ejemplo 1 y luego se diluyeron de manera seriada con inicio en 5 nM. Se incubaron las células con los ADC durante 4 horas, seguido por un lavado y otras 68 horas de cultivo en medio recién preparado o incubado con los ADC durante 3 días. Posteriormente, se evaluó la viabilidad de las células mediante lisis en un reactivo para ensayo CellTiter-Glo (CTG) (Promega, Madison, WI, EE. UU.). Se midió la luminiscencia del CTG en un lector de placas Envision y se graficaron la media y la desviación estándar de 4 réplicas en Prism. Para cada ADC, se calcularon las IC_{50} en Prism con un modelo de unión de 4 parámetros.

[00675] La FIGURA 3A muestra la viabilidad celular indicada por la luminiscencia CTG y la IC_{50} calculada en células A431 con TF tras una incubación durante 4 h con control isotípico o 25A3-LT-A, seguida de un período de reposo farmacológico y 68 h de cultivo. **La FIGURA 3B** muestra la viabilidad de la célula según lo indica la luminiscencia del CTG y las IC_{50} calculadas en células A431 positivas para TF después de una incubación de 3 días con control de isótopos o 25A3-LT-A. Solamente el ADC anti-FT tuvo citotoxicidad en células A431 positivas para TF.

[00676] Estos datos indican que los conjugados anticuerpo y fármaco anti-FT disminuyeron la viabilidad de las células positivas para TF *in vitro*.

Ejemplo 3: Efecto del ADC anti-FT en el modelo de xenoinjerto MDA MB213

[00677] Se realizaron estudios de xenoinjerto en ratones inmunodeprimidos para evaluar la eficacia de los ADC *in vivo.* Se implantó la estirpe celular de carcinoma de mamas triple negativo MDA-MB231 positiva para TF por vía subcutánea en el flanco de ratones lampiños atímicos (Charles River Laboratories, Wilmington,

MA). Se aleatorizó a los animales cuando los tumores alcanzaron un tamaño promedio de 150 mm^3 a 200 mm^3 y se los trató con la dosis indicada de conjugado anticuerpo y fármaco anti-FT 25A3-LT-A, preparado como se describe en el Ejemplo 1, isotipo de control LT-A o vehículo (PBS) por vía intraperitoneal (i. p.) una vez a la semana durante 2 semanas. Se realizaron evaluaciones de peso corporal y tamaño del tumor dos veces por semana. Se retiraba a los animales del estudio y se les practicaba la eutanasia una vez que el tamaño del tumor alcanzaba los 1200 mm^3 o había indicios de úlceras cutáneas. Los resultados se representan en la **FIGURA 4A**. El tratamiento con 5 mg/kg de 25A3-LT-A redujo el volumen del tumor y retrasó el crecimiento del tumor, en comparación con cualquier dosis del control del isótopo LT-A. El tratamiento con 15 mg/kg de 25A3-LT-A redujo el volumen del tumor y evitó el crecimiento del tumor, en comparación con cualquier dosis del control del isótopo LT-A. Estos datos indican que el conjugado anticuerpo y fármaco anti-FT 25A3-LT-A fue eficaz para reducir el tamaño del tumor *in vivo*.

Ejemplo 4: Efecto del ADC anti-FT en el modelo de xenoinjerto HPAF-II

[00678] Se realizaron estudios de xenoinjerto en ratones inmunodeprimidos para evaluar la eficacia de los ADC *in vivo.* Se implantaron células de carcinoma pancreático HPAF-II positivas para TF por vía subcutánea en el flanco de ratones lampiños atímicos (Charles River Laboratories, Wilmington, MA). Se aleatorizó a los animales a los grupos de tratamiento cuando los tumores alcanzaron un tamaño promedio de 150 mm^3 a 200 mm^3 y se los trató con la dosis indicada de conjugado anticuerpo y fármaco anti-FT 25A3-LT-A, preparado como se describe en el Ejemplo 1, control del isótopo LT-A o vehículo (PBS) por vía intraperitoneal (i. p.) una vez a la semana durante 2 semanas. Se realizaron evaluaciones de peso corporal y tamaño del tumor dos veces por semana. Se retiraba a los animales del estudio y se les practicaba la eutanasia una vez que el tamaño del tumor alcanzaba los 1200 mm^3 o había indicios de úlceras cutáneas. Los resultados se representan en la **FIGURA 4B**. Los ADC que comprenden conjugado de anticuerpo 25A3 anti-FT con LT-A disminuyeron el tamaño del

tumor en comparación con los grupos tratados con vehículo o tratados con el control del isótopo LT-A. Estos datos indican que el conjugado anticuerpo y fármaco anti-FT 25A3-LT-A fue eficaz para disminuir el tamaño del tumor *in vivo*.

[00679] Para un estudio de respuesta a la dosis, la dosis indicada de conjugado anticuerpo y fármaco anti-FT 25A3-LT-A se administró vía i. p. una vez, cuando los tumores alcanzaron un tamaño de 200 mm^3. **Las FIGURAS 5A-5D** muestran los efectos sobre el volumen del tumor de 25A3-LT-A administrado a dosis con un intervalo de 1,25 mg/kg a 10 mg/kg. Los ratones tratados con 1,25 mg/kg o el vehículo tuvieron tumores que superaron los 1000 mm^3 en el plazo de 15 días de recibir el tratamiento. En contraste, los ratones tratados con 5 mg/kg, 7,5 mg/kg o 10 mg/kg de 25A3-LT-A mostraron un crecimiento del tumor más lento durante las primeras cinco semanas después del tratamiento.

[00680] Para un estudio de farmacocinética (PK), se trató vía i. p. a los ratones con 2,5 mg/kg o 10 mg/kg del conjugado anticuerpo y fármaco anti-FT 25A3-LT-A, con inicio cuando los tumores alcanzaron un tamaño de 200 mm^3. Brevemente, se extrajeron muestras cada 24 horas durante 5 días mediante sangrados mandibulares (0,1 mL). Se midió la concentración de 25A3-LT-A en un ensayo de PK en el que hTF fue el reactivo de recubrimiento y un anti-hIgG secundario fue el detector. Los resultados del ensayo de PK se muestran en la **FIGURA 6** y en la Tabla 23. Los datos revelaron que el conjugado anticuerpo y fármaco anti-FT 25A3-LT-A tuvo farmacocinética lineal.

Tabla 23. Resultados del ensayo de PK para ratones tratados con 25A3-LT-A.

Dosis	**$C_{máx}$ (µg/mL)**	**$t_{máx}$ (h)**	**ABC_{0-t} (µg/mL*h)**	**AUCinf (ug/mL*h)**	**T1/2 (h)**	**CL (mL/kg/h)**	**Vss (mL/kg)**
2,5 mg/kg	26,3	2	1190	1670	71,7	1,50	139

25A3-LT-A							
10 mg/kg 25A3-LT-A	136	2	6740	10.500	86,3	0,951	111

[00681] Para evaluar los efectos del ADC anti-FT administrado durante la intervención tardía, se trató vía i. p. a los ratones con 7,5 mg/kg o 10 mg/kg del conjugado anticuerpo y fármaco anti-FT 25A3-LT-A una vez, con inicio cuando los tumores alcanzaron un tamaño de 500 mm^3. Los resultados se muestran en las **FIGURAS 7A-7D**. Los ratones tratados con 7,5 mg/kg de 25A3-LT-A mostraron una disminución del crecimiento del tumor respecto de los ratones en el grupo de control (vehículo). Los datos también mostraron crecimiento del tumor negativo (*es decir*, una disminución en el volumen del tumor) para los ratones tratados con la dosis más alta de 10 mg/kg respecto de los ratones en el grupo de control (vehículo).

Ejemplo 5: Efecto del ADC anti-FT en el modelo de xenoinjerto derivado de varios pacientes

[00682] Se realizaron estudios de xenoinjerto derivado de pacientes (PDX) en ratones lampiños atímicos (Envigo, Indianapolis, IN) para evaluar la eficacia de los ADC 25A3-LT-A *in vivo*. Brevemente, los tumores se pasaron en animales de reserva y se extrajeron para el reimplante. Se implantó a los animales del estudio de manera unilateral en el flanco izquierdo con fragmentos del tumor y se los aleatorizó a grupos de tratamiento cuando sus tumores alcanzaron un tamaño promedio de 150 mm^3 a 200 mm^3. Se trató vía i. p. a los animales con 10 mg/kg de 25A3-LT-A o el control del vehículo (PBS) una vez. Se realizaron determinaciones de peso corporal y volumen del tumor dos veces por semana. Se retiraba a los animales del estudio y se les practicaba la eutanasia después

de 30 días, una vez que el tamaño del tumor alcanzaba los 1200 mm^3 o cuando había indicios de úlceras cutáneas. Se graficó el volumen medio del tumor (MTV) con el error estándar de la media (SEM) a lo largo del tiempo. Se determinó la eficacia del tratamiento mediante el cálculo de la inhibición de crecimiento del tumor (% de TGI = 100% × [1-(MTV final – MTV inicial de un grupo tratado)/(MTV final – MTV inicial del grupo de control)]) antes de practicar la eutanasia a cualquiera de los animales en el grupo del vehículo debido a un tamaño del tumor ≥1200 mm^3.

[00683] El análisis de inmunohistoquímica (IHC) se utilizó para la detección de la expresión de TF y la ubicación celular (membranosa frente a citoplásmica). Se pretrataron tejidos de ratones no tratados con Rip Tide (Mosaic Laboratories, Lake Forest, CA) durante 40 minutos de 95 °C a 97 °C en un baño María, se enfriaron durante 10 minutos en el banco, se enjuagaron 3 veces con agua destilada y se enjuagaron durante 5 minutos con tampón Splash-T (Mosaic Laboratories). Se bloquearon secciones de tejido en reactivo bloqueador de peroxidasa EnVision (equipo de detección con HRP de ratón EnVision+, Agilent, Carpinteria, CA) durante 5 minutos, seguido por 2 enjuagues en tampón Splash-T durante 5 minutos cada uno. Luego, se tiñeron las secciones de tejido con anticuerpo anti-FT (clon de ratón HFT-1) o un reactivo de control negativo de ratón durante 30 minutos, seguido por 2 enjuagues en tampón Splash-T durante 5 minutos cada uno. El segundo paso de tinción de las secciones de tejido se realizó durante 30 minutos con HRP de ratón EnVision+ (equipo de detección con HRP de ratón EnVision+), seguido por 2 enjuagues en tampón Splash-T durante 5 minutos cada uno. Para visualizar la tinción con anti-FT, se revelaron las secciones de tejido con cromógeno DAB (equipo de detección con HRP de ratón EnVision+) durante 5 minutos, seguido por 10 inmersiones y un enjuague de 5 minutos en agua destilada. Se contratiñeron secciones de tejido con hematoxilina durante 5 minutos, seguido por 3 enjuagues en agua destilada.

[00684] Un patólogo anatómico certificado clasificó la intensidad de la tinción en una escala de números enteros semicuantitativa de 0 (negativo) a 3 (o “3+”). Se

anotó el porcentaje de células con tinción positiva en cada concentración de intensidad. La clasificación se basó en la ubicación de TF en la membrana de la célula. El puntaje H combina componentes de intensidad de tinción con el porcentaje de células positivas. Tiene un valor de entre 0 y 300 y se define de la siguiente manera: 1 × (porcentaje de células con tinción a una intensidad de 1+) + 2 × (porcentaje de células con tinción a una intensidad de 2+) + 3 × (porcentaje de células con tinción a una intensidad de 3+) = puntaje H. 3+ es la tinción más potente, 2+ es la tinción moderada, 1+ es la tinción débil y 0 es sin tinción.

[00685] ***Estudio de PDX 1***

[00686] Con los métodos divulgados arriba, se evaluó a cinco ratones (modelos) respecto de la eficacia de los ACD 25A3-LT-A. Los resultados se muestran en las Tablas 24-29 y en las **FIGURAS 8A-8E**. Como se muestra, cuatro de los cinco modelos exhibieron una inhibición del crecimiento del tumor significativa. Estos datos indican una alta eficacia en diversos tipos de tumor y cánceres que expresan TF. El análisis de IHC de los modelos reveló puntajes H similares entre distintos modelos de tumor (todos entre 100 y 200), lo que indica cantidad similar de expresión de TF y distribución heterogénea de TF (**FIGURAS 9A-9E**).

Tabla 24. Inhibición del crecimiento del tumor informada en el estudio de PDX 1.

N.º de modelo	**Tipo de tumor**	**Inhibición del crecimiento del tumor**
CTG-0353	Gástrico	97%
CTG-0707	Gástrico	10%
CTG-0786	Cabeza y cuello	100%
CTG-1076	Vejiga	88%
CTG-1130	Cabeza y cuello	101%

[00687] La FIGURA 9A y la Tabla 25 muestran los resultados del análisis de IHC del modelo gástrico CTG-0707. En las siguientes tablas, SCL = ubicación

subcelular. M = tinción de la membrana; C = tinción citoplásmica; MC = tinción de la membrana/citoplásmica; CM = tinción citoplásmica/de la membrana.

Tabla 25. Determinación del puntaje H para el modelo gástrico CTG-0707.

% de tinción de las células en cada intensidad							Porcentaje positivo	Puntaje H
3+	SCL	2+	SCL	1+	SCL	0		
0		60	CM	20	CM	20	80	140

[00688] La FIGURA 9B y la Tabla 26 muestran los resultados del análisis de IHC del modelo gástrico CTG-0353.

Tabla 26. Determinación del puntaje H para el modelo gástrico CTG-0353.

% de tinción de las células en cada intensidad							Porcentaje positivo	Puntaje H
3+	SCL	2+	SCL	1+	SCL	0		
10	MC	40	MC	20	MC	30	70	130

[00689] La FIGURA 9C y la Tabla 27 muestran los resultados del análisis de IHC del modelo de vejiga CTG-1076.

Tabla 27. Determinación del puntaje H para el modelo de vejiga CTG-1076

% de tinción de las células en cada intensidad							Porcentaje positivo	Puntaje H
3+	SCL	2+	SCL	1+	SCL	0		
0		70	MC	10	MC	20	80	150

[00690] La FIGURA 9D y la Tabla 28 muestran los resultados del análisis de IHC del modelo de cabeza y cuello CTG-0786.

Tabla 28. Determinación del puntaje H para el modelo de cabeza y cuello CTG-0786.

% de tinción de las células en cada intensidad							Porcentaje positivo	Puntaje H
3+	SCL	2+	SCL	1+	SCL	0		
0		50	MC	30	MC	20	80	130

[00691] La FIGURA 9E y la Tabla 29 muestran los resultados del análisis de IHC del modelo de cabeza y cuello CTG-1130.

Tabla 29. Determinación del puntaje H para el modelo de cabeza y cuello CTG-1130.

% de tinción de las células en cada intensidad							Porcentaje positivo	Puntaje H
3+	SCL	2+	SCL	1+	SCL	0		
20	MC	30	MC	40	MC	10	90	160

[00692] ***Estudio de PDX 2***

[00693] Con los métodos divulgados arriba, se evaluó a cinco ratones respecto de la eficacia de los ACD 25A3-LT-A. Los resultados se muestran en las Tablas 30-35 a continuación y en las **FIGURAS 10A-10E**. Como se muestra, dos de los cinco modelos exhibieron una inhibición del crecimiento del tumor significativa. Hubo una mayor variación entre los modelos analizados en el estudio de PDX 2 respecto de los modelos analizados en el estudio de PDX 1, realizados por distintos proveedores externos. En particular, los dos modelos de cáncer esofágico y un modelo de cáncer pancreático (PA6262) exhibieron baja inhibición del crecimiento del tumor. Algunas explicaciones posibles para la baja inhibición del crecimiento del tumor observada en estos modelos incluyen lo siguiente:

- Baja o nula expresión de TF respecto de los otros modelos, posterior al implante; y/o
- Necrosis dentro de los tumores; y/o
- Variación o error experimental.

El análisis de IHC de los modelos reveló puntajes H similares entre distintos modelos de tumor (lo que indica cantidad similar de expresión de TF) y distribución heterogénea de TF (**FIGURAS 11A-12**).

Tabla 30. Inhibición del crecimiento del tumor informada en el estudio de PDX 2.

N.º de modelo	**Tipo de tumor**	**Inhibición del crecimiento del tumor**
HN2574	HN: cáncer de cabeza y cuello	90%
ES0147	ES: cáncer esofágico	36%
ES0214	ES: cáncer esofágico	–4%
PA1332	PA: cáncer pancreático	60%
PA6262	PA: cáncer pancreático	30%

[00694] La FIGURA 11A y la Tabla 31 muestran los resultados del análisis de IHC del modelo de cabeza y cuello HN 2574.

Tabla 31. Determinación del puntaje H para el modelo de cabeza y cuello HN 2574.

% de tinción de las células en cada intensidad							Porcentaje positivo	Puntaje H
3+	SCL	2+	SCL	1+	SCL	0		
10	MC	30	MC	50	MC	10	90	140

[00695] La FIGURA 11B y la Tabla 32 muestran los resultados del análisis de IHC del modelo esofágico ES0214.

Tabla 32. Determinación del puntaje H para el modelo esofágico ES0214.

% de tinción de las células en cada intensidad							Porcentaje positivo	Puntaje H
3+	SCL	2+	SCL	1+	SCL	0		
10	CM	20	CM	40	MC	30	70	110

[00696] La FIGURA 11C y la Tabla 33 muestran los resultados del análisis de IHC del modelo esofágico ES0147.

Tabla 33. Determinación del puntaje H para el modelo esofágico ES0147.

% de tinción de las células en cada intensidad							Porcentaje positivo	Puntaje H
3+	SCL	2+	SCL	1+	SCL	0		
15	MC	15	MC	30	MC	40	60	105

[00697] La FIGURA 11D y la Tabla 34 muestran los resultados del análisis de IHC del modelo pancreático PA1332.

Tabla 34. Determinación del puntaje H para el modelo pancreático PA1332.

% de tinción de las células en cada intensidad							Porcentaje positivo	Puntaje H
3+	SCL	2+	SCL	1+	SCL	0		
10	CM	60	CM	25	CM	5	95	175

[00698] La FIGURA 11E y la Tabla 35 muestran los resultados del análisis de IHC del modelo pancreático PA6262.

Tabla 35. Determinación del puntaje H para el modelo pancreático PA6262.

% de tinción de las células en cada intensidad							Porcentaje positivo	Puntaje H
3+	SCL	2+	SCL	1+	SCL	0		
10	MC	30	CM	50	MC	10	90	140

[00699] La FIGURA 12 muestra inmunotinciones de tres modelos de ratón adicionales implantados con xenoinjertos derivados de pacientes con cáncer ovárico o de cuello uterino y que se sometieron a análisis de IHC con los métodos divulgados arriba en el Ejemplo 5.

Ejemplo 6: Efecto del ADC anti-FT en el modelo de xenoinjerto derivado de pacientes gástricos

[00700] Se realizaron estudios de xenoinjerto en ratones inmunodeprimidos para evaluar la eficacia de los ADC *in vivo.* El xenoinjerto derivado de pacientes gástricos positivos para TF se implantó por vía subcutánea en el flanco de ratones lampiños atímicos (Envigo, Indianapolis, IN). Se aleatorizó a los animales cuando los tumores alcanzaron un tamaño promedio de 150 mm^3 a 200 mm^3 y

se los trató con la dosis indicada de conjugado anticuerpo y fármaco anti-FT 25A3-LT-A, preparado como se describe en el Ejemplo 1, isotipo de control LT-A o vehículo (PBS) por vía intraperitoneal (i. p.) una vez a la semana durante 2 semanas. Se realizaron evaluaciones de peso corporal y tamaño del tumor dos veces por semana. Se retiraba a los animales del estudio y se les practicaba la eutanasia una vez que el tamaño del tumor alcanzaba los 1200 mm^3 o había indicios de úlceras cutáneas. Los resultados se representan en la **FIGURA 13A**. Los ADC que comprenden conjugado de anticuerpo 25A3 anti-FT con LT-A (25A3-LT-A) disminuyeron el tamaño del tumor en comparación con los grupos tratados con vehículo o tratados con el control del isótopo LT-A. El tratamiento con 4 mg/kg de 25A3-LT-A redujo el volumen del tumor y retrasó el crecimiento del tumor, en comparación con 12 mg/kg del control del isótopo LT-A. El tratamiento con 12 mg/kg de 25A3-LT-A redujo el volumen del tumor y evitó el crecimiento del tumor, en comparación con 12 mg/kg del control del isótopo LT-A. Estos datos indican que el conjugado anticuerpo y fármaco anti-FT 25A3-LT-A fue eficaz para reducir el tamaño del tumor *in vivo*.

Ejemplo 7: Efecto del ADC anti-FT en el modelo de xenoinjerto derivado de pacientes de pulmón

[00701] Se realizaron estudios de xenoinjerto en ratones inmunodeprimidos para evaluar la eficacia de los ADC *in vivo.* El xenoinjerto derivado de pacientes de pulmón positivo para TF se implantó por vía subcutánea en el flanco de ratones NSG™ (NOD.Cg-*Prkdc*^{scid} *Il2rgt*^{m1Wjl}/SzJ) (Jackson Laboratories, Sacramento, CA). Se aleatorizó a los animales cuando los tumores alcanzaron un tamaño promedio de 150 mm^3 a 200 mm^3 y se los trató con la dosis indicada de conjugado anticuerpo-fármaco anti-FT 25A3-LT-A, preparado como se describe en el Ejemplo 1 o control del isótopo LT-A por vía intraperitoneal (i. p.) una vez a la semana durante 2 semanas. Se realizaron evaluaciones de peso corporal y tamaño del tumor dos veces por semana. Se retiraba a los animales del estudio y se les practicaba la eutanasia una vez que el tamaño del tumor alcanzaba los 1200 mm^3 o había indicios de úlceras cutáneas. Los resultados se representan

en la **FIGURA 13B**. Los ADC que comprenden conjugado de anticuerpo 25A3 anti-FT con LT-A retrasaron el crecimiento del tumor en comparación con el grupo tratado con el control del isótopo LT-A. Estos datos indican que el conjugado anticuerpo y fármaco anti-FT 25A3-LT-A fue eficaz para retrasar la progresión del tumor *in vivo*.

Ejemplo 8: Estudio piloto de cinotoxicología: 25A3-LT-A frente a 25A3-MMAE

[00702] El propósito de este estudio fue evaluar los parámetros de toxicidad del ADC 25A3-LT-A respecto del conjugado anticuerpo y fármaco anti-FT 25A3-MMAE y determinar si el primero exhibe toxicología primaria parecida o mejor respecto de los datos disponibles públicamente para otro conjugado anticuerpo y fármaco anti-FT que comprende MMAE (tisotumab vedotin (Genmab)). Tisotumab vedotin es un anticuerpo monoclonal completamente humano anti-FT conjugado con MMAE con un conector escindible de peptidasa. (Chenard-Poirier *et al*., *Annals of Oncology* 28.suppl_5 (2017)). Se ha mostrado en estudios anteriores que tisotumab vedotin ocasiona toxicidad limitante de la dosis (p. ej., neutropenia) cuando se administra a la dosis de 2,2 mg/kg. (de Bono *et al.*, *The Lancet Oncology* 20.3 (2019): 383-393). También se ha observado neutropenia y toxicidad cutánea a una dosis de 3 mg/kg con tisotumab vedotin. Ha dado como resultado toxicidades limitantes de la dosis a 6 mg/kg, en las cuales los sujetos muestran neutropenia de grado 4 e irritación cutánea y úlceras cutáneas graves. (Parren, P., Advancing Towards the Clinic As Soon As Possible: Pre-Clinical Development of a Therapeutic ADC Targeting Tissue Factor. World ADC Conference, October 16, 2013; Geoij, B.E.C.G. *Antibody-drug conjugates in cancer*. Diss. Faculty of Medicine, Leiden University Medical Center (LUMC), Leiden University, 2016.) Estudios anteriores con un anticuerpo dirigido a HER-2 conjugado con LT-A revelaron que HER-2-LT-A no ocasionó neutropenia significativa hasta los 18 mg/kg. Además, se han informado aumentos transitorios de ALT y AST para tisotumab vedotin.

[00703] Para realizar el estudio de toxicología piloto actual, se trató a macacos hembra (“cino”) (*n* = 3 por grupo) (mediante inyección intravenosa) con 25A3-LT-A o 25A3-MMAE y recibieron las dosis indicadas en los días 1, 22 y 36 del estudio. Los animales tratados con 25A3-MMAE recibieron 1,5 mg/kg, 3 mg/kg o 6 mg/kg por dosis, mientras que los animales tratados con 25A3-LT-A recibieron 3 mg/kg, 6 mg/kg o 18 mg/kg por dosis. Todos los macacos que sobrevivieron hasta el día 43 del estudio se sometieron a una eutanasia programada.

[00704] ***Observaciones clínicas: Toxicidad cutánea***

[00705] La Tabla 36 proporciona datos cualitativos respecto de la toxicidad cutánea en varios grupos de tratamiento hacia el final del estudio. Como se muestra, hubo más irritación cutánea grave en animales tratados con 25A3-MMAE que en animales tratados con 25A3-LT-A. Por ejemplo, solamente uno de tres animales necesitó de tratamiento esteroideo tópico en el grupo con 6,0 mg/kg de 25A3- LT-A, mientras que dos de tres animales en el grupo con 6,0 mg/kg de 25A3-MMAE necesitaron esteroides tópicos y sistémicos para contrarrestar la irritación cutánea. Entre todos los grupos de tratamiento con 25A3 LT-A (*n* = 12), solamente un animal necesitó esteroides sistémicos y ese animal había recibido la dosis más alta analizada de 18,0 mg/kg, la cual fue 3 veces la dosis más alta analizada en la cohorte con 25A3-MMAE. Estos datos indican una mayor toxicidad cutánea (y una menor tolerabilidad) cuando se administra un ADC anti-FT con base en MMAE en comparación con su contraparte del ADC anticuerpo anti-FT con base en LT-A.

Tabla 36. Observaciones clínicas respecto de la toxicidad cutánea.

Grupo	**Observaciones**	**Tratamiento**
1,5 mg/kg de 25A3-MMAE	Piel roja en la zona inguinal después de la primera dosis en todos los animales y hasta el día 43 en 1 animal	

3,0 mg/kg de 25A3-MMAE	Piel roja en la zona inguinal, las extremidades posteriores y el hocico después de la primera dosis	
6,0 mg/kg de 25A3-MMAE	Piel roja y seca extensa después de la primera dosis, más limitada después de la segunda dosis	Dos animales: esteroides tópicos y sistémicos
3,0 mg/kg de 25A3-LT-A	Piel roja en la región inguinal y en las extremidades posteriores	
6,0 mg/kg de 25A3-LT-A	Piel roja extendida a más regiones Rascado excesivo en un animal	Un animal: esteroide tópico
12,0 mg/kg de 25A3-LT-A	Piel roja extendida a más regiones Rascado excesivo	Un animal: esteroide tópico
18,0 mg/kg de 25A3-LT-A	Piel roja extendida a más regiones Conjuntivitis/infección ocular en 1 animal	Un animal: esteroides tópicos y sistémicos

[00706] ***Química clínica: Toxicidad hepática***

[00707] Para evaluar los parámetros de toxicidad hepática relacionados con el tratamiento con 25A3-MMAE y 25A3-LT-A, se midió la globulina, la albúmina, la alanina aminotransferasa (ALT) y la aspartato aminotransferasa (AST). Se

extrajeron muestras de sangre de cada uno de los macacos en los días 0 (pretratamiento), 8, 15, 29 y 36 del estudio y antes de la eutanasia. **Las FIGURAS 14A y 14B** muestran las concentraciones de AST y ALT para los grupos de tratamiento indicados, respectivamente. Estos datos mostraron un aumento transitorio de la AST durante el estudio en macacos tratados con 12 mg/kg de 25A3-LT-A y 18 mg/kg de 25A3-LT-A. Ambos grupos de tratamiento exhibieron un aumento de la AST de Grado 2. Además, los grupos de tratamiento con 12 mg/kg de 25A3-LT-A y 18 mg/kg de 25A3-LT-A exhibieron leves aumentos de la globulina y leves aumentos de la albúmina. Ni 25A3-MMAE ni 25A3-LT-A tuvieron como resultado un aumento transitorio de la ALT.

[00708] ***Hematología***

[00709] Para evaluar más los efectos colaterales posibles de 25A3-MMAE y 25A3-LT-A, se midieron los neutrófilos y los monocitos en los macacos. Se extrajeron muestras de sangre de cada uno de los macacos en los días 0 (pretratamiento), 4, 8, 15, 25, 29, 36 y 43 del estudio y antes de la eutanasia. Las muestras se utilizaron para completar un hemograma, el cual determinó los parámetros de hematología, incluidos, a mero título enunciativo, el recuento de monocitos y el recuento de neutrófilos.

[00710] Las FIGURAS 15A-17D muestran las concentraciones de neutrófilos durante el estudio. Hubo una disminución marcada de los neutrófilos para todos los animales en los grupos con 3 mg/kg de 25A3-MMAE y 6 mg/kg de 25A3-MMAE. En contraste, la mayoría de los macacos en los grupos con 25A3-LT-A se mantuvieron sobre los promedios históricos o tuvieron una sola caída. La única excepción fue el macaco 4502; sin embargo, se debe destacar que el macaco 4502 comenzó con un recuento de neutrófilos muy bajo (**FIGURA 17A**). Los datos mostraron neutropenia de grado 3 y 4 en los macacos tratados con 6 mg/kg de 25A3-MMAE y no mostraron neutropenia para los macacos en los grupos de tratamiento con 25A3-LT-A. Esto indica neutropenia limitante de la dosis a 6 mg/kg cuando se trata con 25A3-MMAE, pero no cuando se trata con 25A3-LT-A.

[00711] Las concentraciones de monocitos fueron similares entre los grupos de tratamiento con 25A3-MMAE y con 25A3-LT-A, excepto por el grupo de tratamiento con 18 mg/kg de 25A3-LT-A (**FIGURA 18**). Dentro del grupo de tratamiento con 18 mg/kg de 25A3-LT-A, se atribuyó el aumento transitorio de monocitos al macaco 7503, el cual tuvo una infección ocular.

[00712] ***PK e inmunogenia***

[00713] Para examinar la PK del ADC, se extrajeron muestras de sangre de los macacos después de la administración de la primera y de la segunda dosis y se evaluaron con un ensayo de anticuerpo monoclonal (mAb) y un ensayo de ADC intacto. El ensayo de mAB utilizó hTF como el reactivo de recubrimiento y un anti-hIgG secundario como el detector. El ensayo de ADC intacto utilizó un mAb antitoxina como reactivo de recubrimiento y anti-IgG como el detector. Las Tablas 37 y 38 muestran los resultados del ensayo de mAb y del ensayo de ADC intacto.

Tabla 37. Resultados de la media del ensayo de mAB con desviación estándar.

Molécula	**Concentración de dosis (mg/kg)**	**1.ª dosis**			**2.ª dosis**		
		$C_{máx}$ (µg/mL)	**AUC-0_{0-21} (ug*d/mL)**	**$t_{1/2}$ (días)**	**$C_{máx}$**	**ABC_{21-42} (ug*d/mL)**	**$t_{1/2}$ (días)**
25A3-MMAE	1,5	33,7 (2,79)	53,0 (10,4)	1,15 (0,166)	14,0 (15,6)	17,1 (23,5)	0,679 (0,371)

25A3-MMAE	3	66,2 (5,10)	**137** (16,3)	1,45 (0,166)	36,7 (12,3)	**21,7** (12,5)	0,462 (0,202)
25A3-MMAE	6	139 (6,40)	**358** (64,2)	1,67 (0,164)	95,3 (55,4)	**146** (137)	1,04 (0,779)
25A3-LT-A	3	62,9 (9,17)	**200** (19,1)	1,67 (0,230)	54,7 (31,6)	**137** (97,8)	1,15 (0,282)
25A3-LT-A	6	162 (23,7)	**504** (74,1)	1,81 (0,220)	142 (26,8)	**259** (59,1)	1,62 (0,536)
25A3-LT-A	12	291 (15,2)	1290 (84,2)	2,67 (0,562)	273 (140)	748 (117)	1,67 (0,139)
25A3-LT-A	18	466 (37,6)	1970 (207)	4,73 (0,423)	375 (82,2)	2000 (145)	3,97 (0,229)

Tabla 38. Resultados de la media del ensayo de ADC intacto con desviación estándar

Molécula	Concentración de dosis (mg/kg)	1.ª dosis	2.ª dosis

		$C_{máx}$ (µg/mL)	AUC-0_{0-21} (ug*d/mL)	$t_{1/2}$ (días)	$C_{máx}$	ABC_{21-42} (ug*d/mL)	$t_{1/2}$ (días)
25A3-MMAE	1,5	31,6 (1,63)	38,4 (5,87)	1,12 (0,169)	15,8 (14,1)	16,4 (15,8)	0,820 (0,201)
25A3-MMAE	3	57,1 (7,17)	**88,9** (11,5)	1,34 (0,161)	39,2 (14,0)	**26,4** (16,1)	0,582 (0,234)
25A3-MMAE	6	157 (15,7)	**265** (45,0)	1,64 (0,172)	99,2 (56,7)	**103** (86,4)	0,957 (0,681)
25A3-LT-A	3	68,1 (6,23)	**214** (27,4)	1,91 (0,250)	59,4 (32,3)	**170** (110)	1,39 (0,369)
25A3-LT-A	6	165 (10,7)	**511** (84,2)	2,23 (0,436)	152 (13,6)	**302** (35,2)	2,26 (0,823)
25A3-LT-A	12	281 (18,7)	1250 (86,7)	3,03 (0,589)	278 (22,4)	805 (118)	2,12 (0,179)

25A3-LT-A	18	464 (24,5)	2000 (212)	5,10 (0,816)	378 (90,4)	2100 (205)	4,14 (0,410)

[00714] Para 25A3-MMAE y 25A3-LT-A, los perfiles de concentraciones y tiempo fueron parecidos, según se determinó con los ensayos de mAB y ADC intacto. Esto indica que cada uno de los ADC no se degradan con rapidez.

[00715] Los hallazgos del análisis de los datos de PK e inmunogenia se resumen en la Tabla 39. En el caso de 25A3-MMAE, la PK aumentó de manera aproximadamente lineal con la primera dosis y la concentración después de la administración de la segunda dosis fue marcadamente inferior que después de la administración de la primera dosis. En el caso de 25A3-LT-A, entre los grupos, las concentraciones después de la administración de la segunda dosis fueron parecidas a las observadas después de la primera administración (excepto en la dosis de 3 mg/kg). Estos datos indican distribución del fármaco levemente mediada por el objetivo, la cual disminuye con el aumento de la dosis. Los datos también mostraron una depuración más rápida de 25A3-MMAE en comparación con 25A3-LT-A a 3 mg/kg y 6 mg/kg, lo que indica una captación no mediada por el objetivo.

[00716] Como se muestra en la Tabla 39, todos los macacos desarrollaron anticuerpos antifármaco (ADA). Aunque se observó inmunogenia, en general, los ADA en macacos no son factores de predicción de ADA en seres humanos.

Tabla 39. Los hallazgos de PK e inmunogenia.

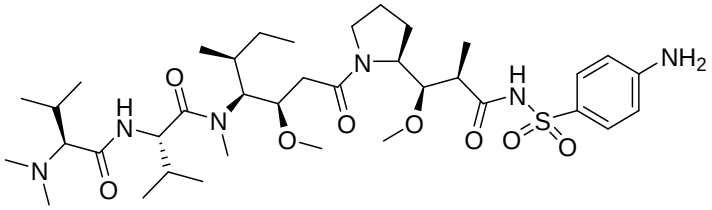
Grupo	**PK**	**Inmunogenia**
1,5 mg/kg de 25A3-MMAE	Disminución significativa de la exposición entre la primera y la segunda dosis	Todos los animales con resultado positivo en el día 22 (valores de 105 a 2080) y en el día 43 (valores de 30 a 7385)

3,0 mg/kg de 25A3-MMAE	Disminución significativa de la exposición entre la primera y la segunda dosis	Todos los animales con resultado positivo en el día 22 (valores de 410 a 1429) y en el día 43 (valores de 1176 a 1387)
6,0 mg/kg de 25A3-MMAE	Disminución significativa de la exposición entre la primera y la segunda dosis	Todos los animales con resultado positivo en el día 22 (valores de 301 a 6066) y en el día 43 (valores de 27 a 2177)
3,0 mg/kg de 25A3-LT-A	Disminución moderada de la exposición entre la primera y la segunda dosis	Todos los animales con resultado positivo en el día 22 (valores de 5 a 874) y 2 en el día 43 (valores de 301 a 1341)
6,0 mg/kg de 25A3-LT-A	Disminución moderada de la exposición entre la primera y la segunda dosis	Todos los animales con resultado positivo en el día 22 (valores de 219 a 395) y en el día 43 (valores de 198 a 1432)
12,0 mg/kg de 25A3-LT-A	Disminución leve de la exposición entre la primera y la segunda dosis	Todos los animales con resultado positivo en el día 22 (valores de 63 a 92) y en el día 43 (valores de 26 a 53)
18,0 mg/kg de 25A3-LT-A	Disminución leve de la exposición entre la	Todos los animales con resultado positivo en el día

	primera y la segunda dosis	22 (valores de 4 a 46) y en el día 43 (valores de 2 a 32)

Ejemplo 9: Síntesis del enlace-toxina A

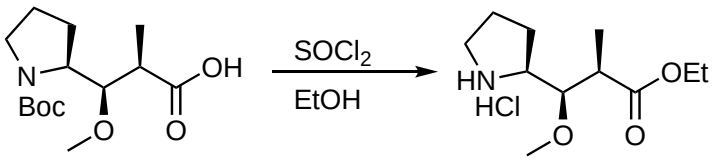
[00717] El siguiente ejemplo describe la preparación de un enlace-toxina de ejemplo (enlace-toxina A, también denominado LT-A) que comprende el derivado de auristatina, Compuesto **9**:



9

[00718] Se pueden emplear protocolos similares para preparar enlaces-toxinas que comprenden otros derivados de auristatina de la Fórmula **I** general, conforme se describe en el presente documento (ver también la Publicación de Solicitud de Patente Internacional n.º WO 2016/041082).

7.1 Etil (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-3-((S)-pirrolidin-2-il)propanoato (Compuesto 1)

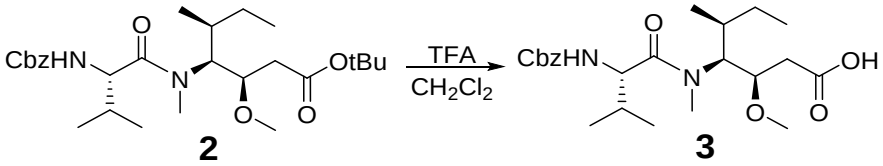


1

[00719] Se agregó cloruro de tionilo (3,0 mL) gota a gota a una solución agitada de ácido (2R,3R)-3-((S)-1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoico (Boc-Dap-OH, 4,31 g, 15,0 mmol) en etanol absoluto (27,0 mL) a 0 °C. Se dejó que la solución resultante se calentara a temperatura ambiente y se controló el progreso mediante HPLC-MS. Después de 18 horas, no se detectó material inicial restante y se concentró la solución hasta su secado bajo presión reducida. El aceite resultante se suspendió en tolueno (10 mL) y se concentró bajo presión reducida dos veces, luego se suspendió en éter dietílico

(5 mL) y se concentró bajo presión reducida para dos veces para alcanzar el compuesto título como una espuma sólida blanca (3,78 g, % de cant. de rendimiento). MS *m/z* obs. = 216,5 (M + 1).

7.2 Ácido (3R,4S,5S)-4-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoico (Compuesto 3)

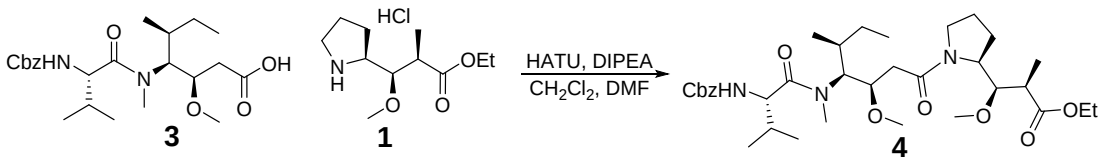


2 **3**

[00720] El Compuesto **2** se preparó conforme se describe en la Publicación de Solicitud de Patente Internacional n.º WO 2016/041082.

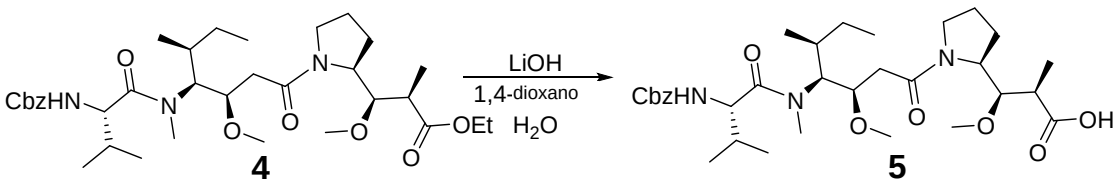
[00721] Se agregó ácido trifluoroacético (5,0 mL) a una solución agitada del Compuesto **2** (6,965 g, 14,14 mmol) en diclorometano (20 mL). Se controló que se completara la reacción mediante HPLC-MS y, después de 40 horas, no había material inicial restante. La reacción se concentró bajo presión reducida, se coevaporó con tolueno (2 × 10 mL) y diclorometano (2 × 10 mL) para obtener un líquido espumoso blanco (6,2 g, cant. rendimiento TFA residual). Este material se disolvió en 200 mL de 1:3 EtOAc:hexanos caliente y se permitió que se enfríe a temperatura ambiente. Durante el enfriamiento, se formó un precipitado, así como algunos cristales pequeños. Se agregaron 5 mL de EtOAc y se calentó nuevamente la suspensión para disolver el precipitado por completo. Se formaron más cristales al enfriar a temperatura ambiente y se colocó el matraz a –30 °C durante la noche. A la mañana siguiente, se decantó el licor original y se enjuagaron los cristales con 2 × 50 mL de hexanos y se secaron bajo vacío alto. Se recuperaron 5,67 g del compuesto título como un producto cristalino. MS *m/z* obs. = 405,7 (M + 1).

7.3 Etil (2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoato (Compuesto 4)



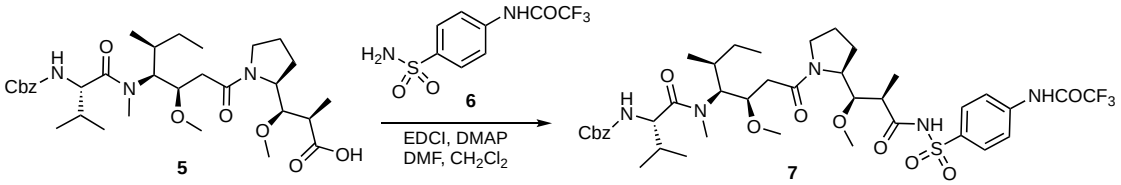
[00722] Se agregó HATU (5,732 g, 15,07 mmol, equiv. 1,005) y *N,N*-diisopropiletilamina (7,84 mL, equiv. 3) a una solución agitada del Compuesto **3** (6,711 g, 15,37 mmol, equiv. 1,025) en una mezcla de diclorometano (5,0 mL) y *N,N*-dimetilformamida (5,0 mL) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 30 minutos a temperatura ambiente, se agregó gota a gota una solución del Compuesto **1** (3,776 g, 15,00 mmol, equiv. 1,0) en una mezcla de diclorometano (1,0 mL) y *N,N*-dimetilformamida (1,0 mL) y se enjuagó en Compuesto **1** residual con 3 mL más de 1:1 diclorometano:*N,N*-dimetilformamida. Se controló la reacción mediante HPLC-MS y no se observó Compuesto **1** restante después de 15 minutos. La reacción se concentró bajo presión reducida, se diluyó con acetato de etilo (~125 mL) y se extrajo la fase orgánica con HCl 1 M (2 × 50 mL), 1 × dH_2O (1 × 50 mL), $NaHCO_3$ saturado (3 × 50 mL), salmuera (25 mL). Las capas acuosas ácidas y básicas se lavaron con 25 mL de EtOAc. Todas las sustancias orgánicas luego se combinaron y secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron para crear un aceite rojo. El residuo se disolvió en una cantidad mínima de diclorometano (~10 mL), cargada en una columna de gel de sílice Biotage® SNAP Ultra de 360 g (Isolera™ Flash System; Biotage AB, Suecia) para la purificación (EtOAc al 20%-100% en hexanos sobre 10 volúmenes de columna). Se combinaron fracciones con producto puro para recuperar 7,9 g de sólido espumoso blanco. Se sometió a las fracciones impuras a una segunda purificación en una columna de gel de sílice Biotage® SNAP Ultra de 100 g y se combinaron con producto puro para recuperar el compuesto título como un sólido de espuma blanco (8,390 g, 88,3%). MS *m/z* obs. = 634,7 (M + 1).

7.4 Ácido (2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-(((benciloxi)carbonil)amino)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoico (Compuesto 5)



[00723] Se agregó dH_2O (39,7 mL) e hidróxido de litio monohidrato (1 M en H_2O, 39,7 mL, equiv. 3) a una solución agitada del Compuesto **4** (8,390 g, 13,24 mmol) en 1,4-dioxano (158 mL). La reacción se agitó a 4 °C y se controló mediante HPLC-MS respecto del consumo del material inicial, el cual tomó 3 días hasta que solamente quedaron vestigios del Compuesto **4**. Durante el curso de la reacción, se formó un producto nuevo, correspondiente a la pérdida de metanol (eliminación β, <2%) en porcentajes pequeños además del material deseado. La reacción se acidificó con la adición de HCl acuoso 1 M (50 mL) y se concentró bajo presión reducida para eliminar el dioxano. Se extrajo la mezcla de reacción restante con acetato de etilo (4 × 50 mL) y se combinó la fase orgánica, se lavó con salmuera (15 mL + 2 mL de HCl 2 M), se secó sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró bajo presión reducida para producir un aceite con color pálido. Se volvió a disolver el aceite con éter dietílico (~50 mL) y se concentró bajo presión reducida (3 veces) para facilitar la eliminación de dioxano residual, alcanzando el producto título como un aceite duro (7,81 g, rendimiento del 97% con algo de dioxano residual y el Compuesto **4**). MS *m/z* obs. = 606,7 (M + 1).

7.5 Bencil ((S)-1-(((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)carbamato (Compuesto 7)

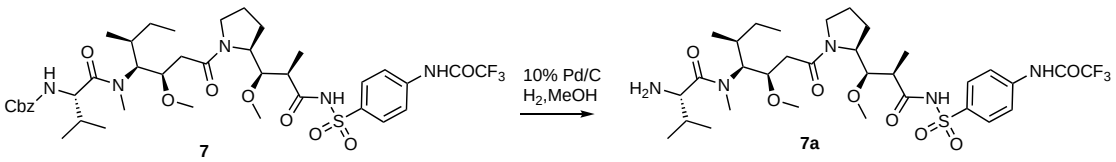


[00724] El Compuesto **6** se preparó conforme se describe en la Publicación de Solicitud de Patente Internacional n.º WO 2016/041082.

[00725] Se agregó 2,2,2-trifluoro-N-(4-sulfamoilfenil)acetamida (Compuesto **6**, 4,095 g, equiv. 1,3, disuelto en 3 mL de DMF), *N,N*-dimetilpiridina (1,867 g, equiv. 1,3) y *N,N*-dimetilformamida (1,5 mL) a una solución agitada del Compuesto **5** (7,12 g, 11,754 mmol) en diclorometano (20 mL) para generar una suspensión amarilla clara. La adición adicional de 5 mL de DMF no aclaró la solución. Se agregó clorhidrato de *N*-(3-Dimetilaminopropil)-*N′*-etilcarbodiimida (EDCI) (2,817 g, equiv. 1,25) en una sola fracción y se controló la reacción mediante HPLC-MS. Después de 48 horas, la reacción ya no progresaba y se agregaron 400 mg adicionales de EDCI. Después de 18 horas no se observó material inicial restante y se concentró la reacción bajo presión reducida para crear un aceite amarillo. El aceite se disolvió en acetato de etilo (~150 mL) y HCl 1 M (20 mL) y la fase orgánica se lavó con HCl 2 M frío (2 × 10 mL), $NaHCO_3$ saturado (1 × 10 mL), salmuera (20 mL + 5 mL de HCl 2 M). Se extrajeron fracciones acídicas y básicas con EtOAc (1 × 20 mL), se combinaron todas las fracciones orgánicas, se secaron sobre $MgSO_4$ y se concentraron bajo presión reducida para producir un sólido crudo oleoso (13 g). Se disolvió el residuo en diclorometano (~10 mL), se cargó en una columna de gel de sílice Biotage® SNAP Ultra de 360 g y se purificó bajo EtOAc al 10%-100% (AcOH al 2%) en un gradiente de hexanos sobre 12 volúmenes de columna con una meseta de 3 volúmenes de columna a EtOAc al 50%. Se combinaron fracciones con el producto puro, se concentraron bajo presión reducida, se disolvieron y concentraron a partir de tolueno (2 × 10 mL) y éter dietílico (2 × 10 mL) para alcanzar el producto deseado, 7,1 g de sólido espumoso blanco. Se sometió a las fracciones impuras a purificación repetida bajo condiciones de gradiente más

superficiales con una columna de gel de sílice Biotage® SNAP Ultra de 100 g en un instrumento Isolera™. Se combinaron todas las fracciones puras para recuperar el producto puro (el compuesto título) como un sólido espumoso blanco (8,60 g, 86%). MS *m/z* obs. = 856,7 (M + 1).

7.6 (S)-2-amino-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido)propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 7a)

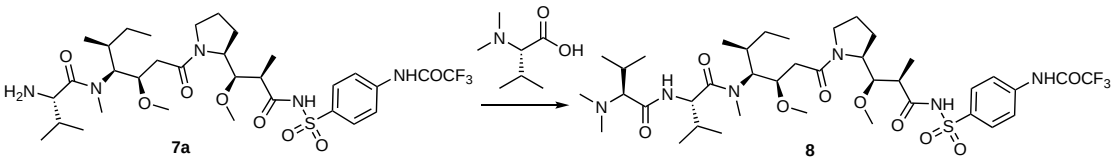


7 7a

[00726] Se disolvió el Compuesto **7** (3,71 g, 4,33 mmol) en *N,N*-dimetilformamida al 10% en acetato de etilo (30 mL) en un matraz de fondo redondo con un agitador magnético y equipado con un adaptador de línea de gas de 3 vías. Se evacuó dos veces el recipiente bajo presión reducida y se cargó con gas nitrógeno. Se agregó paladio al 10% en carbono (0,461 g, equiv. 0,1) en una sola fracción, se ajustó el adaptador de 3 días al matraz, se ajustó un globo de hidrógeno al adaptador y se evacuó dos veces el recipiente bajo presión reducida y se lo cargó con hidrógeno. Se dejó que la reacción se agitara durante 2 días, tiempo durante el cual se recargó de manera ocasional el globo de hidrógeno. Después de aproximadamente 48 horas, el análisis mediante HPLC-MS indicó que no quedaba material inicial. Se diluyó la reacción con metanol (20 mL) y se filtró a través de un tapón de celite. El celite se lavó con metanol (2 × 50 mL). Todos los filtrados se combinaron y concentraron bajo presión reducida y el aceite resultante se disolvió y concentró a partir de diclorometano. Después del secado bajo presión reducida, se aisló el compuesto título como un polvo incoloro (3,10 g, 99%). MS *m/z* obs. = 722,6 (M + 1).

7.7 (S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((4-(2,2,2-

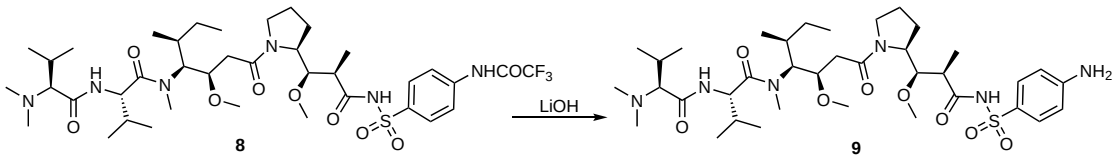
trifluoroacetamido)fenil)sulfonamido) propil)pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 8)



[00727] Se agregó HATU (3,216 g, 8,46 mmol) y diisopropiletilanina (3,10 mL, 17,8 mmol) a una solución agitada de *N,N*-(*L*)-dimetilvalina (1,696 g, 9,35 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (10 mL). Se produjo una solución amarilla clara después de 5 minutos. Se continuó con la agitación durante 10 minutos más, luego se agregó el Compuesto **7a** (3,213 g, 4,45 mmol) en una sola fracción. Después de 1 hora más de agitación, la HPLC-MS indicó que restaban vestigios de Compuesto **7a** y la reacción fue durante 16 horas. Luego, la reacción se concentró bajo presión reducida, se diluyó con acetato de etilo (120 mL) y 40 mL 1:1 de $NaHCO_3$ (sat.): LiCl al 5% y se transfirió a un embudo de separación. Se retiró la capa acuosa y se lavó la fase orgánica con LiCl (1 × 20 mL), $NaHCO_3$ (sat., 2 × 20 mL). Las capas acuosas se combinaron y se extrajeron con EtOAc (3 × 50 mL). Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera (1 × 20 mL), se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y concentraron para crear un aceite cargado de DMF que se concentró mediante evaporador rotativo para quitar el DMF residual, lo que produjo 7 g de aceite de color pajizo crudo. Se disolvió el aceite en una cantidad mínima de metanol al 10% en diclorometano (~11 mL) y se cargó en una columna de gel de sílice Biotage® SNAP Ultra de 360 g para la purificación (MeOH al 2%-20% en CH_2Cl_2 sobre 15 volúmenes de columna, con el producto que eluye a aproximadamente del 10% al 13%). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se concentraron bajo presión reducida para alcanzar el compuesto título como una espuma incolora. Las fracciones impuras se combinaron, se evaporaron y se sometieron a purificación repetida en una columna de gel de sílice Biotage® SNAP Ultra de 100 g en un instrumento Isolera™ y se combinaron con el producto puro de la

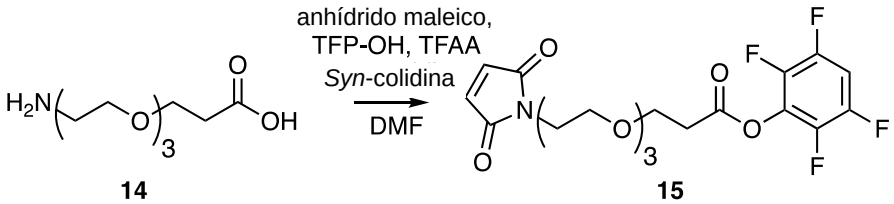
primera columna para producir un sólido espumoso incoloro (3,78 g). MS *m/z* obs. = 850,6 (M + 1).

7.8 (S)-N-((3R,4S,5R)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((4-aminofenil)sulfonamido)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamida (Compuesto 9)



[00728] Se agregó agua (3,5 mL) e hidróxido de litio monohidrato 1 M (equiv. 3, 3,46 mL) en 1,4-dioxanos (15 mL) a una solución agitada del Compuesto **8** (0,980 g, 1,154 mmol). Se dejó que la suspensión clara resultante se agitara a 4 °C y se controló mediante HPLC-MS respecto del consumo del material inicial. Cuando se completó la conversión (~5 días), se neutralizó la reacción con 3,46 mL de HCl 1 M y se concentró bajo presión reducida para eliminar el dioxano. La fase acuosa resultante se diluyó con 60 mL de EtOAc y 5 mL de salmuera, luego se extrajo con acetato de etilo (2 × 30 mL). Las fracciones orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na_2SO_4, se filtraron y se evaporaron para producir el compuesto título como un sólido marrón (0,930 g). R_f = 0,5 (MeOH al 8% en CH_2Cl_2). MS *m/z* obs. = 753,7 (M + 1).

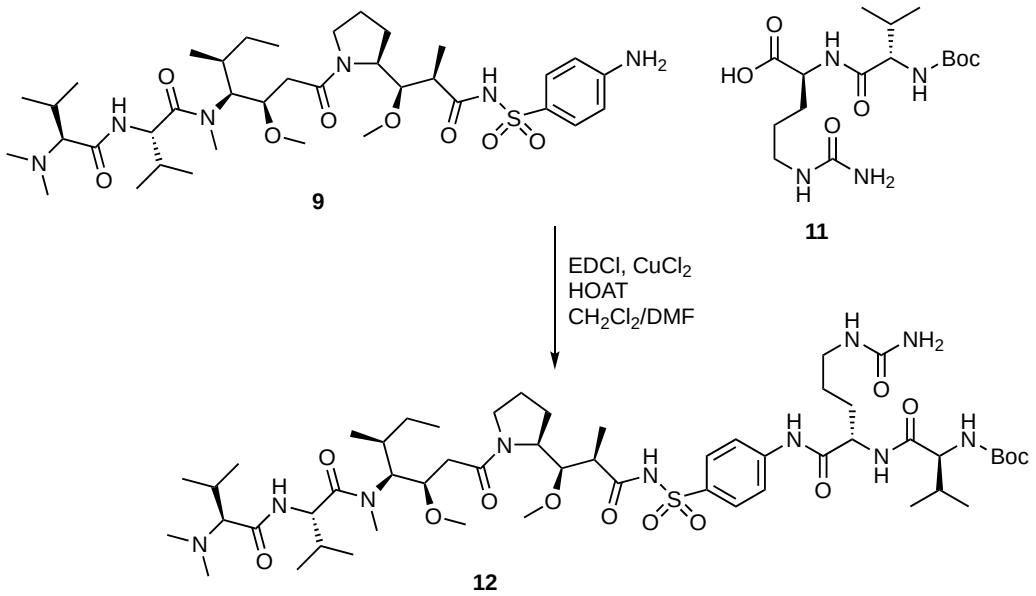
7.9 2,3,5,6-tetrafluorofenil 3-(2-(2-(2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)etoxi)etoxi)etoxi)propanoato (Compuesto 15)



[00729] En un matraz cónico seco de 50 mL, se disolvió ácido 3-(2-(2-(2-aminoetoxi)etoxi)etoxi)propanoico (Compuesto **14**, 1,000 g, 4,52 mmol) y anhídrido maleico (0,443 g, 4,52 mmol) en *N,N*-dimetilformamida anhidra (5 mL).

La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas bajo N_2, luego se enfrió a 0 °C y se agregó gota a gota *syn*-colidina (1,263 mL, eq. 2,1). En un matraz cónico seco separado de 50 mL, se disolvió tetrafluorofenol (3,002 g, eq. 4) en *N,N*-dimetilformamida anhidra (10 mL). El matraz se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se agregó gota a gota anhídrido trifluoroacético (2,548 mL, eq. 4). Después de la agitación durante 15 minutos, se agregó gota a gota *syn*-colidina (2,407 mL, eq. 4). Se dejó que el matraz se agitara durante otros 15 minutos y luego se agregó el contenido al primer matraz gota a gota mediante una jeringa. Se dejó que la reacción se calentara a temperatura ambiente y se continuó la agitación bajo N_2. Se controló la reacción mediante HPLC-MS respecto del consumo de materiales iniciales. Después de 6 días, la reacción estaba completa con el consumo total del Compuesto **14**, dejando solamente el Compuesto **15** y una pequeña cantidad (~5%) del producto intermedio amida maleica bis-TFP. La reacción se transfirió a un embudo de separación, se diluyó con éter dietílico (75 mL) y se lavó con LiCl al 5% (1 × 20 mL), HCl 1 M (2 × 20 mL), $NaHCO_3$ sat. (5 × 20 mL) y salmuera (1 × 20 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 se filtró y se evaporó para obtener un aceite crudo marrón con DMF residual. Se disolvió el aceite crudo en 8 mL de 1:1 de DMF:H_2O + TFA al 0,1%, se cargó en una columna de 60 g Biotage® SNAP Ultra C18 (Biotage AB, Uppsala, Suecia) y se purificó bajo un gradiente lineal al 30%-100% de ACN/H_2O + TFA al 0,1% sobre 8 volúmenes de columna. Las fracciones puras se combinaron y se diluyeron con salmuera (20 mL), luego se extrajeron con 3 × 50 mL de Et_2O. Las sustancias orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se evaporaron para recuperar el compuesto título como un aceite amarillo claro (1,34 g, rendimiento del 66%).

7.10 Tert-butil ((S)-1-(((S)-1-((4-(N-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5S)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoil)sulfamoil)fenil)amino)-1-oxo-5-ureidopentan-2-il)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il)carbamato (Compuesto 12)

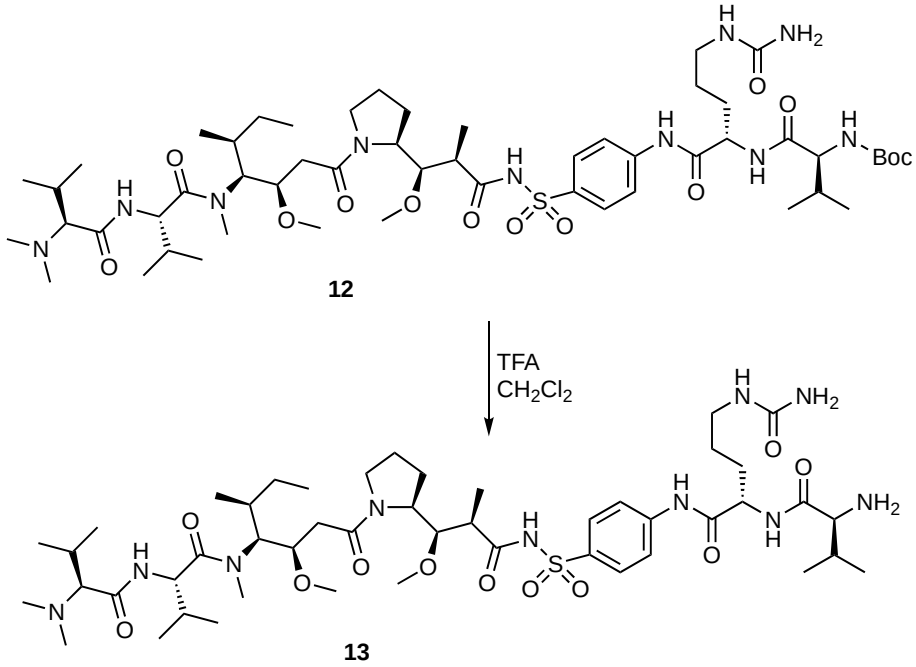


[00730] El Compuesto **11** se preparó conforme se describe en la Publicación de Solicitud de Patente Internacional n.º WO 2016/041082.

[00731] A un matraz con forma de pera vacío de 25 mL, se agregó el Compuesto **11** (1,342 g, 3,58 mmol, equiv. 3,0), clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (0,664 g, 3,46 mmol, equiv. 2,9) y 7-hidroxi-azabenzotriazol (HOAT) (0,472 g, 3,46 mmol, equiv. 2,9). Estos sólidos se disolvieron en una mezcla de *N,N*-dimetilformamida (0,5 mL) y diclorometano (4,5 mL) con agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos. Por separado, se disolvió el Compuesto **9** (0,900 g, 1,20 mmol) en una mezcla de *N,N*-dimetilformamida (0,2 mL) y diclorometano (1,8 mL) y se agregó al matraz con forma de pera, enjuagándolo con diclorometano (1,0 mL). Se aumentó la velocidad de agitación a 1000 rpm, lo que produjo un vórtice. Dentro de los 2 minutos de la adición del Compuesto **9,** se agregó cloruro de cobre (II) (0,514 g, 3,83 mmol, equiv. 3,2) en una fracción directamente al centro del vórtice a través de un embudo para polvo estrecho. La solución inicialmente amarilla clara se volvió una suspensión marrón oscura que cambió en 10 minutos a una suspensión verde oscura. Se controló que se completara la reacción mediante HPLC-MS y no se observaron cambios en el progreso de la reacción entre las

muestras tomadas a los 30 minutos y a 1 hora (~95% completa). Se dejó que la reacción se agitara durante la noche a temperatura ambiente, luego se agregó 2-(2-aminoetilamino)etanol (0,483 mL, 4,781 mmol, equiv. 4), EtOAc (10 mL) y dH_2O (5 mL) a la suspensión agitada, la cual pasó por un cambio de color a azul profundo. Se agitó vigorosamente la suspensión durante 4 horas a medida que los sólidos suspendidos se disolvían gradualmente en la mezcla bifásica. Se transfirió esta mezcla a un embudo de separación y se diluyó con EtOAc (100 mL) y salmuera (10 mL) y se extrajo la capa acuosa con IpOH/EtOAc al 10% (4 × 50 mL). Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron sobre Na_2SO_4 y se evaporaron para producir un sólido crudo ligeramente azul. Este sólido crudo se disolvió en una mezcla de metanol (0,5 mL) y diclorometano (6 mL) y se purificó en una columna de gel de sílice Biotage® SNAP Ultra de 100 g (MeOH al 2%-20% en CH_2Cl_2 sobre 10 volúmenes de columna, seguidos por una meseta de 8 volúmenes de columna a MeOH al 20%). El producto eluyó como un pico amplio después de 1 a 2 volúmenes de columna a MeOH ~20% en CH_2Cl_2. Las fracciones que contenían el material deseado se combinaron y se concentraron bajo presión reducida para producir el compuesto título como un sólido blanco (1,105 g, 83%). MS *m/z* obs. = 555,9 ((M + 2)/2), 1109,8 (M + 1).

7.11 (S)-2-((S)-2-amino-3-metilbutanamido)-N-(4-(N-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5R)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoil)sulfamoil)fenil)-5-ureidopentanamida (Compuesto 13)

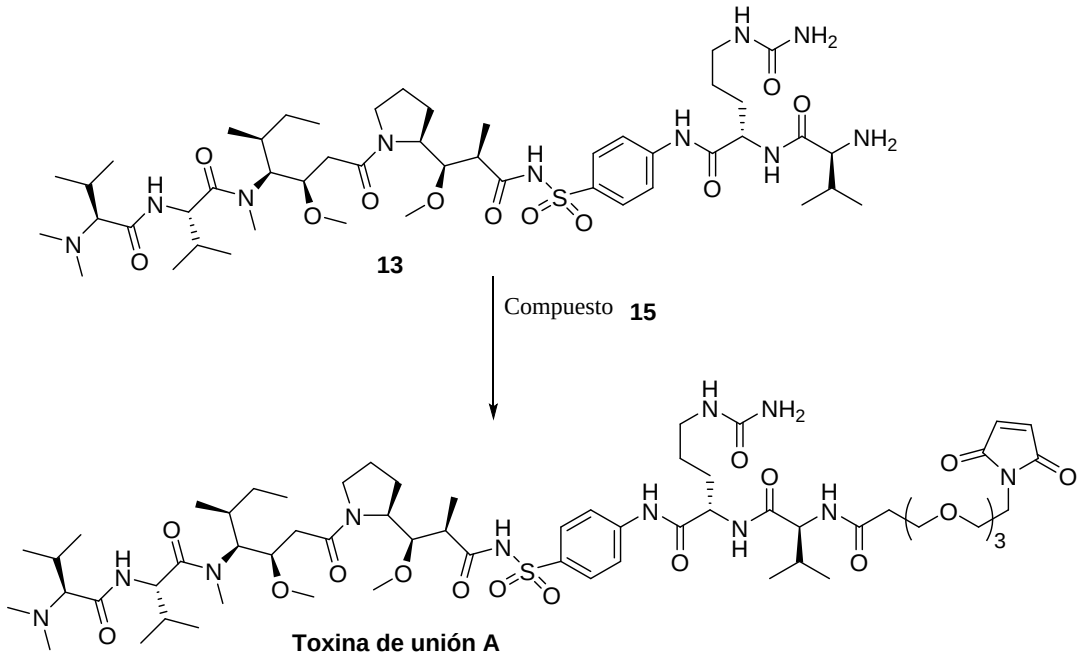


12

13

[00732] Se agregó una mezcla de diclorometano (10 mL) y ácido trifluoroacético (2,0 mL) a una solución del Compuesto **12** (0,926 g, 0,834 mmol). Se controló la reacción mediante HPLC-MS respecto del consumo de material inicial (~45 minutos). La reacción se coevaporó con acetonitrilo (2 × 10 mL) y diclorometano (2 × 10 mL) bajo presión reducida para eliminar el exceso de ácido trifluoroacético. El residuo resultante se disolvió en una cantidad mínima de diclorometano y metanol (3:1, v/v, ~2 mL) y se agregó a una solución agitada de éter dietílico (200 mL) y hexanos (100 mL) gota a gota mediante una pipeta, lo que produjo una suspensión de sólidos blancos pálidos. Los sólidos se filtraron y secaron bajo vacío para lograr el compuesto título en la forma de un polvo blanco, como la sal de trifluoroacetato (1,04 g, rendimiento cuantitativo con algunos solventes residuales). MS *m/z* obs. = 505,8 ((M + +2)/2).

7.12 (S)-N-(4-(N-((2R,3R)-3-((S)-1-((3R,4S,5R)-4-((S)-2-((S)-2-(dimetilamino)-3-metilbutanamido)-N,3-dimetilbutanamido)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoil)sulfamoil)fenil)-2-((S)-1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-14-isopropil-12-oxo-3,6,9-trioxa-13-azapentadecanamido)-5-ureidopentanamida (enlace-toxina A)



[00733] Se agregó el Compuesto **15** (0,314 g, equiv. 1,2) y diisopropiletilamina (0,305 mL, equiv. 3,0) a una solución agitada del Compuesto **13** (0,722 g, 0,584 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (4 mL). El análisis mediante HPLC-MS a las 2 horas no indicó material inicial restante. La reacción se acidificó con TFA (300 µL) y luego se diluyó con diH_2O + TFA al 0,1% (9 mL). La solución resultante se cargó en una columna de 120 g Biotage® SNAP Ultra C18 (Biotage, Uppsala, Suecia) y se purificó bajo un gradiente de ACN/H_2O + TFA al 0,1%: ACN al 20%-60% sobre 10 volúmenes de columna, ACN al 60%-100% sobre 5 volúmenes de columna. El producto eluyó cerca del ACN al 40%. Se combinaron y liofilizaron fracciones puras según lo identificado mediante LCMS. Se recuperó un sólido en polvo blanco del liofilizador. Se repitió la liofilización a una concentración más alta (aprox. 50 mg/mL en 2:1 de H_2O/ACN) en un vial para producir el compuesto título como un sólido liofilizado más lento y menos floculante (754,2 mg, 91%). MS *m/z* obs. = 647,4 ((M + 2)/2), 1292,8 (M + 1).

[00734] Si bien la invención se ha mostrado y descrito particularmente con referencia a una realización preferente y varias incorporaciones alternativas, los expertos en la materia pertinente entenderán que se pueden realizar varios

cambios en la forma y los detalles en esta sin apartarse del espíritu y el alcance de la invención.

[00735] Todas las referencias, patentes emitidas y solicitudes de patentes citadas en el cuerpo de la presente memoria g1100se incorporan en virtud del presente documento como referencia en su totalidad para todos los propósitos.

SECUENCIAS

Tabla 5: Secuencias de región variables

Clon	Dominios VH (SEQ ID n.º)	Dominios VL (SEQ ID n.º)
25A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSPFGYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID n.º: 113)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQFQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID n.º: 114)
25A3	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSPFGYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID n.º: 151)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSINNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYNLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID n.º: 152)
25A5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSPFGYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID n.º: 189)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYSLEYGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQFQKLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID n.º: 190)
25A	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDAYGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDT	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYSLEYGVPSRFSGS

Clon	Dominios VH (SEQ ID n.º)	Dominios VL (SEQ ID n.º)
5-T	STSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDA GTYSPFGYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID n.º: 836)	GSGTEFTLTISSLQPDDFATYY CQQFQKLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID n.º: 837)
25G	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFRSYGISWVRQAPGQGLEWMG WVAPYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDT STSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDA GTYSPYGYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID n.º: 227)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASQSISSWLAWYQQKPGKA PKLLIYKASSLESGVPSRFSGS GSGTEFTLTISSLQPDDFATYY CQQFQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID n.º: 228)
25G1	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFRSYGISWVRQAPGQGLEWMG WVAPYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDT STSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDA GTYSPYGYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID n.º: 265)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CRASHSIDSWLAWYQQKPGKA PKLLIYKASYLESGVPSRFSGS GSGTEFTLTISSLQPDDFATYY CQLFQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID n.º: 266)
25G9	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS GYTFRSYGISWVRQAPGQGLEWMG WVAPYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDT STSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDA GTYSPYGYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID n.º: 303)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTIT CQASQSIDSWLAWYQQKPGK APKLLIYSASYLESGVPSRFSG SGSGTEFTLTISSLQPDDFATY YCQRFQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID n.º: 304)

Tabla 6: Consenso sobre secuencias de región variables

Grupo	**Consenso sobre dominios VH (SEQ ID n.º)**	**Consenso sobre dominios VL (SEQ ID n.º)**
25	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFx[D/R]x[S/V/A]YGISWVRQAPGQGLEWMGWx[I/V]APYx[S/N]GNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSPx[F/Y]GYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID n.º: 763)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCx[R/Q]ASx[Q/E/H]SIx[S/D/N]x[S/N]WLAWYQQKPGKAPKLLIYx[K/S]Ax[S/Y]x[S/Y/N]LEx[S/Y]GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQx[Q/L/R]FQx[S/K]LPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID n.º: 764)

Tabla 7: Secuencias del anticuerpo 25A-CDR

		Ejemplar*	**Kabat**	**Chothia**	**AbM**	**Contacto**	**IMGT**
Sec. VHCDR	*VHCDR1*	GYTFDVYGIS (SEQ ID n.º: 77)	VYGIS (SEQ ID n.º: 83)	GYTFDVY (SEQ ID n.º: 89)	GYTFDVYGIS (SEQ ID n.º: 95)	DVYGIS (SEQ ID n.º: 101)	GYTFDVYG (SEQ ID n.º: 107)
	VHCDR2	WIAPYNGNTNYAQKLQG (SEQ ID n.º: 78)	WIAPYNGNTNYAQKLQG (SEQ ID n.º: 84)	PYNG (SEQ ID n.º: 90)	WIAPYNGNTN (SEQ ID n.º: 96)	WMGWIAPYNGNTN (SEQ ID n.º: 102)	IAPYNGNT (SEQ ID n.º: 108)
	VHCDR3	DAGTYSPFGYGMDV (SEQ ID n.º: 79)	DAGTYSPFGYGMDV (SEQ ID n.º: 85)	AGTYSPFGYGMD (SEQ ID n.º: 91)	DAGTYSPFGYGMDV (SEQ ID n.º: 97)	ARDAGTYSPFGYGMD (SEQ ID n.º: 103)	ARDAGTYSPFGYGMDV (SEQ ID n.º: 109)
Sec. VL	*VLCD*	RASQSISSWLA	RASQSISSWLA (SEQ ID n.º: 86)	SQSISSW (SEQ ID n.º: 92)	RASQSISSWLA	SSWLAWY	QSISSW (SEQ ID n.º: 110)

CDR	*R1*	(SEQ ID n.º: 80)			(SEQ ID n.º: 98)	(SEQ ID n.º: 104)	
	VLCDR2	KASSLES (SEQ ID n.º: 81)	KASSLES (SEQ ID n.º: 87)	KAS (SEQ ID n.º: 93)	KASSLES (SEQ ID n.º: 99)	LLIYKASSLE (SEQ ID n.º: 105)	KAS (SEQ ID n.º: 111)
	VLCDR3	QQFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 82)	QQFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 88)	FQSLPPF (SEQ ID n.º: 94)	QQFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 100)	QQFQSLPPF (SEQ ID n.º: 106)	QQFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 112)

Secuencia VH*:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFDVYGIS**WVRQAPGQGLEWMG**WIAPYNGNTNYAQKLQG**RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR**DAGTYSPFGYGMDV**WGQGTTVTVSS (SEQ ID n.º: 113)

Secuencia VL*:
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC**RASQSISSWLA**WYQQKPGKAPKLLIY**KASSLES**GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYC**QQFQSLPPFT**FGGGTKVEIK (SEQ ID n.º: 114)

*Las secuencias CDR ejemplares abarcan los aminoácidos según lo determinado por Kabat más Chothia

Tabla 8: Secuencias del anticuerpo 25A3-CDR							
		Ejemplar*	**Kabat**	**Chothia**	**AbM**	**Contacto**	**IMGT**
Sec. VH CDR	*VHCDR1*	GYTFDVYGIS (SEQ ID n.º: 115)	VYGIS (SEQ ID n.º: 121)	GYTFDVY (SEQ ID n.º: 127)	GYTFDVYGIS (SEQ ID n.º: 133)	DVYGIS (SEQ ID n.º: 139)	GYTFDVYG (SEQ ID n.º: 145)
	VHCDR2	WIAPYSGNTNYAQKLQG (SEQ ID n.º: 116)	WIAPYSGNTNYAQKLQG (SEQ ID n.º: 122)	PYSG (SEQ ID n.º: 128)	WIAPYSGNTN (SEQ ID n.º: 134)	WMGWIAPYSGNTN (SEQ ID n.º: 140)	IAPYSGNT (SEQ ID n.º: 146)
	VHCDR3	DAGTYSPFGYGMDV (SEQ ID n.º: 117)	DAGTYSPFGYGMDV (SEQ ID n.º: 123)	AGTYSPFGYGMD (SEQ ID n.º: 129)	DAGTYSPFGYGMDV (SEQ ID n.º: 135)	ARDAGTYSPFGYGMD (SEQ ID n.º: 141)	ARDAGTYSPFGYGMDV (SEQ ID n.º: 147)

Sec. VL CDR	*VLCDR1*	QASQSINNWLA (SEQ ID n.º: 118)	QASQSINNWLA (SEQ ID n.º: 124)	SQSINNW (SEQ ID n.º: 130)	QASQSINNWLA (SEQ ID n.º: 136)	NNWLAWY (SEQ ID n.º: 142)	QSINNW (SEQ ID n.º: 148)
	VLCDR2	KAYNLES (SEQ ID n.º: 119)	KAYNLES (SEQ ID n.º: 125)	KAY (SEQ ID n.º: 131)	KAYNLES (SEQ ID n.º: 137)	LLIYKAYNLE (SEQ ID n.º: 143)	KAY (SEQ ID n.º: 149)
	VLCDR3	QLFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 120)	QLFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 126)	FQSLPPF (SEQ ID n.º: 132)	QLFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 138)	QLFQSLPPF (SEQ ID n.º: 144)	QLFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 150)

Secuencia VH*:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFDVYGIS**WVRQAPGQGLEWMG**WIAPYSGNTNYAQKLQG**RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR**DAGTYSPFGYGMDV**WGQGTTVTVSS (SEQ ID n.º: 151)

Secuencia VL*:
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC**QASQSINNWLA**WYQQKPGKAPKLLIY**KAYNLES**GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYC**QLFQSLPPFT**FGGGTKVEIK (SEQ ID n.º: 152)

*Las secuencias CDR ejemplares abarcan los aminoácidos según lo determinado por Kabat más Chothia

Tabla 9: Secuencias del anticuerpo 25A5-CDR							
		Ejemplar*	**Kabat**	**Chothia**	**AbM**	**Contacto**	**IMGT**
Sec. VHCDR	*VHCDR1*	GYTFDVYGIS (SEQ ID n.º: 153)	VYGIS (SEQ ID n.º: 159)	GYTFDVY (SEQ ID n.º: 165)	GYTFDVYGIS (SEQ ID n.º: 171)	DVYGIS (SEQ ID n.º: 177)	GYTFDVYG (SEQ ID n.º: 183)
	VHCDR2	WIAPYSGNTNYAQKLQG (SEQ ID n.º: 154)	WIAPYSGNTNYAQKLQG (SEQ ID n.º: 160)	PYSG (SEQ ID n.º: 166)	WIAPYSGNTN (SEQ ID n.º: 172)	WMGWIAPYSGNTN (SEQ ID n.º: 178)	IAPYSGNT (SEQ ID n.º: 184)
	VHCDR3	DAGTYSPFGYGMDV (SEQ ID n.º: 155)	DAGTYSPFGYGMDV (SEQ ID n.º: 161)	AGTYSPFGYGMD (SEQ ID n.º: 167)	DAGTYSPFGYGMDV (SEQ ID n.º: 173)	ARDAGTYSPFGYGMD (SEQ ID n.º: 179)	ARDAGTYSPFGYGMDV (SEQ ID n.º: 185)

Sec. VL CDR	*VLCDR1*	RASESISNWLA (SEQ ID n.º: 156)	RASESISNWLA (SEQ ID n.º: 162)	SESISNW (SEQ ID n.º: 168)	RASESISNWLA (SEQ ID n.º: 174)	SNWLAWY (SEQ ID n.º: 180)	ESISNW (SEQ ID n.º: 186)
	VLCDR2	KAYSLEY (SEQ ID n.º: 157)	KAYSLEY (SEQ ID n.º: 163)	KAY (SEQ ID n.º: 169)	KAYSLEY (SEQ ID n.º: 175)	LLIYKAYSLE (SEQ ID n.º: 181)	KAY (SEQ ID n.º: 187)
	VLCDR3	QQFQKLPPFT (SEQ ID n.º: 158)	QQFQKLPPFT (SEQ ID n.º: 164)	FQKLPPF (SEQ ID n.º: 170)	QQFQKLPPFT (SEQ ID n.º: 176)	QQFQKLPPF (SEQ ID n.º: 182)	QQFQKLPPFT (SEQ ID n.º: 188)

Secuencia VH*:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFDVYGIS**WVRQAPGQGLEWMG**WIAPYSGNTNYAQKLQG**RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR**DAGTYSPFGYGMDV**WGQGTTVTVSS (SEQ ID n.º: 189)

Secuencia VL*:

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC**RASESISNWLA**WYQQKPGKAPKLLIY**KAYSLEY**GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYC**QQFQKLPPFT**FGGGTKVEIK (SEQ ID n.º: 190)

*Las secuencias CDR ejemplares abarcan los aminoácidos según lo determinado por Kabat más Chothia

Tabla 10: Secuencias del anticuerpo 25A5-T-CDR							
		Ejemplar*	**Kabat**	**Chothia**	**AbM**	**Contacto**	**IMGT**
Sec. VH CDR	*VHCDR1*	GYTFDAYGIS (SEQ ID n.º: 884)	AYGIS (SEQ ID n.º: 890)	GYTFDAY (SEQ ID n.º: 896)	GYTFDAYGIS (SEQ ID n.º: 902)	DAYGIS (SEQ ID n.º: 908)	GYTFDAYG (SEQ ID n.º: 914)
	VHCDR2	WIAPYSGNTNYAQKLQG (SEQ ID n.º: 885)	WIAPYSGNTNYAQKLQG (SEQ ID n.º: 891)	PYSG (SEQ ID n.º: 897)	WIAPYSGNTN (SEQ ID n.º: 903)	WMGWIAPYSGNTN (SEQ ID n.º: 909)	IAPYSGNT (SEQ ID n.º: 915)
	VHCDR3	DAGTYSPFGYGMDV (SEQ ID n.º: 886)	DAGTYSPFGYGMDV (SEQ ID n.º: 892)	AGTYSPFGYGMD (SEQ ID n.º: 898)	DAGTYSPFGYGMDV (SEQ ID n.º: 904)	ARDAGTYSPFGYGMD (SEQ ID n.º: 910)	ARDAGTYSPFGYGMDV (SEQ ID n.º: 916)

Sec. VL CDR	*VLCDR1*	RASESISNWLA (SEQ ID n.º: 887)	RASESISNWLA (SEQ ID n.º: 893)	SESISNW (SEQ ID n.º: 899)	RASESISNWLA (SEQ ID n.º: 905)	SNWLAWY (SEQ ID n.º: 911)	ESISNW (SEQ ID n.º: 917)
	VLCDR2	KAYSLEY (SEQ ID n.º: 888)	KAYSLEY (SEQ ID n.º: 894)	KAY (SEQ ID n.º: 900)	KAYSLEY (SEQ ID n.º: 906)	LLIYKAYSLE (SEQ ID n.º: 912)	KAY (SEQ ID n.º: 918)
	VLCDR3	QQFQKLPPFT (SEQ ID n.º: 889)	QQFQKLPPFT (SEQ ID n.º: 895)	FQKLPPF (SEQ ID n.º: 901)	QQFQKLPPFT (SEQ ID n.º: 907)	QQFQKLPPF (SEQ ID n.º: 913)	QQFQKLPPFT (SEQ ID n.º: 919)

Secuencia VH*:
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFDAYGIS**WVRQAPGQGLEWMG**WIAPYSGNTNYAQKLQG**RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR**DAGTYSPFGYGMDV**WGQGTTVTVSS (SEQ ID n.º: 836)

Secuencia VL*:
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC**RASESISNWLA**WYQQKPGKAPKLLIY**KAYSLEY**GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYC**QQFQKLPPFT**FGGGTKVEIK (SEQ ID n.º: 837)

*Las secuencias CDR ejemplares abarcan los aminoácidos según lo determinado por Kabat más Chothia

Tabla 11: Secuencias del anticuerpo 25G-CDR							
		Ejemplar*	**Kabat**	**Chothia**	**AbM**	**Contacto**	**IMGT**
Sec. VH CDR	*VHCDR1*	GYTFRSYGIS (SEQ ID n.º: 191)	SYGIS (SEQ ID n.º: 197)	GYTFRSY (SEQ ID n.º: 203)	GYTFRSYGIS (SEQ ID n.º: 209)	RSYGIS (SEQ ID n.º: 215)	GYTFRSYG (SEQ ID n.º: 221)
	VHCDR2	WVAPYNGNTNYAQKLQG (SEQ ID n.º: 192)	WVAPYNGNTNYAQKLQG (SEQ ID n.º: 198)	PYNG (SEQ ID n.º: 204)	WVAPYNGNTN (SEQ ID n.º: 210)	WMGWVAPYNGNTN (SEQ ID n.º: 216)	VAPYNGNT (SEQ ID n.º: 222)
	VHCDR3	DAGTYSPYGYGMDV (SEQ ID n.º: 193)	DAGTYSPYGYGMDV (SEQ ID n.º: 199)	AGTYSPYGYGMD (SEQ ID n.º: 205)	DAGTYSPYGYGMDV (SEQ ID n.º: 211)	ARDAGTYSPYGYGMD (SEQ ID n.º: 217)	ARDAGTYSPYGYGMDV (SEQ ID n.º: 223)

Sec. VL CDR	*VLCDR1*	RASQSISSWLA (SEQ ID n.º: 194)	RASQSISSWLA (SEQ ID n.º: 200)	SQSISSW (SEQ ID n.º: 206)	RASQSISSWLA (SEQ ID n.º: 212)	SSWLAWY (SEQ ID n.º: 218)	QSISSW (SEQ ID n.º: 224)
	VLCDR2	KASSLES (SEQ ID n.º: 195)	KASSLES (SEQ ID n.º: 201)	KAS (SEQ ID n.º: 207)	KASSLES (SEQ ID n.º: 213)	LLIYKASSLE (SEQ ID n.º: 219)	KAS (SEQ ID n.º: 225)
	VLCDR3	QQFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 196)	QQFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 202)	FQSLPPF (SEQ ID n.º: 208)	QQFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 214)	QQFQSLPPF (SEQ ID n.º: 220)	QQFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 226)
Secuencia VH*: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFRSYGIS**WVRQAPGQGLEWMG**WVAPYNGNTNYAQKLQG**RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR**DAGTYSPYGYGMDV**WGQGTTVTVSS (SEQ ID n.º: 227)							
Secuencia VL*: DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC**RASQSISSWLA**WYQQKPGKAPKLLIY**KASSLES**GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYC**QQFQSLPPFT**FGGGTKVEIK (SEQ ID n.º: 228)							
*Las secuencias CDR ejemplares abarcan los aminoácidos según lo determinado por Kabat más Chothia							

Tabla 12: Secuencias del anticuerpo 25G1-CDR							
		Ejemplar*	**Kabat**	**Chothia**	**AbM**	**Contacto**	**IMGT**
Sec. VH CDR	*VHCDR1*	GYTFRSYGIS (SEQ ID n.º: 229)	SYGIS (SEQ ID n.º: 235)	GYTFRSY (SEQ ID n.º: 241)	GYTFRSYGIS (SEQ ID n.º: 247)	RSYGIS (SEQ ID n.º: 253)	GYTFRSYG (SEQ ID n.º: 259)
	VHCDR2	WVAPYSGNTNYAQKLQG (SEQ ID n.º: 230)	WVAPYSGNTNYAQKLQG (SEQ ID n.º: 236)	PYSG (SEQ ID n.º: 242)	WVAPYSGNTN (SEQ ID n.º: 248)	WMGWVAPYSGNTN (SEQ ID n.º: 254)	VAPYSGNT (SEQ ID n.º: 260)
	VHCDR3	DAGTYSPYGYGMDV (SEQ ID n.º: 231)	DAGTYSPYGYGMDV (SEQ ID n.º: 237)	AGTYSPYGYGMD (SEQ ID n.º: 243)	DAGTYSPYGYGMDV (SEQ ID n.º: 249)	ARDAGTYSPYGYGMD (SEQ ID n.º: 255)	ARDAGTYSPYGYGMDV (SEQ ID n.º: 261)

Sec. VL CDR	*VLCDR1*	RASHSIDSWLA (SEQ ID n.º: 232)	RASHSIDSWLA (SEQ ID n.º: 238)	SHSIDSW (SEQ ID n.º: 244)	RASHSIDSWLA (SEQ ID n.º: 250)	DSWLAWY (SEQ ID n.º: 256)	HSIDSW (SEQ ID n.º: 262)
	VLCDR2	KASYLES (SEQ ID n.º: 233)	KASYLES (SEQ ID n.º: 239)	KAS (SEQ ID n.º: 245)	KASYLES (SEQ ID n.º: 251)	LLIY KASYLE (SEQ ID n.º: 257)	KAS (SEQ ID n.º: 263)
	VLCDR3	QLFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 234)	QLFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 240)	FQSLPPF (SEQ ID n.º: 246)	QLFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 252)	QLFQSLPPF (SEQ ID n.º: 258)	QLFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 264)

Secuencia VH*:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFRSYGIS**WVRQAPGQGLEWMG**WVAPYSGNTNYAQKLQG**RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR**DAGTYSPYGYGMDV**WGQGTTVTVSS (SEQ ID n.º: 265)

Secuencia VL*:

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC**RASHSIDSWLA**WYQQKPGKAPKLLIY**KASYLES**GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYC**QLFQSLPPFT**FGGGTKVEIK (SEQ ID n.º: 266)

*Las secuencias CDR ejemplares abarcan los aminoácidos según lo determinado por Kabat más Chothia

Tabla 13: Secuencias del anticuerpo 25G9-CDR							
		Ejemplar*	**Kabat**	**Chothia**	**AbM**	**Contacto**	**IMGT**
Sec. VHCDR	*VHCDR1*	GYTFRSYGIS (SEQ ID n.º: 267)	SYGIS (SEQ ID n.º: 273)	GYTFRSY (SEQ ID n.º: 279)	GYTFRSYGIS (SEQ ID n.º: 285)	RSYGIS (SEQ ID n.º: 291)	GYTFRSYG (SEQ ID n.º: 297)
	VHCDR2	WVAPYSGNTNYAQKLQG (SEQ ID n.º: 268)	WVAPYSGNTNYAQKLQG (SEQ ID n.º: 274)	PYSG (SEQ ID n.º: 280)	WVAPYSGNTN (SEQ ID n.º: 286)	WMGWVAPYSGNTN (SEQ ID n.º: 292)	VAPYSGNT (SEQ ID n.º: 298)
	VHCDR3	DAGTYSPYGYGMDV (SEQ ID n.º: 269)	DAGTYSPYGYGMDV (SEQ ID n.º: 275)	AGTYSPYGYGMD (SEQ ID n.º: 281)	DAGTYSPYGYGMDV (SEQ ID n.º: 287)	ARDAGTYSPYGYGMD (SEQ ID n.º: 293)	ARDAGTYSPYGYGMDV (SEQ ID n.º: 299)

Sec. VL CDR	*VLCDR1*	QASQSIDSWLA (SEQ ID n.º: 270)	QASQSIDSWLA (SEQ ID n.º: 276)	SQSIDSW (SEQ ID n.º: 282)	QASQSIDSWLA (SEQ ID n.º: 288)	DSWLAWY (SEQ ID n.º: 294)	QSIDSW (SEQ ID n.º: 300)
	VLCDR2	SASYLES (SEQ ID n.º: 271)	SASYLES (SEQ ID n.º: 277)	SAS (SEQ ID n.º: 283)	SASYLES (SEQ ID n.º: 289)	LLIYSASYLE (SEQ ID n.º: 295)	SAS (SEQ ID n.º: 301)
	VLCDR3	QRFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 272)	QRFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 278)	FQSLPPF (SEQ ID n.º: 284)	QRFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 290)	QRFQSLPPF (SEQ ID n.º: 296)	QRFQSLPPFT (SEQ ID n.º: 302)
Secuencia VH*: QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFRSYGIS**WVRQAPGQGLEWMG**WVAPYSGNTNYAQKLQG**RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCAR**DAGTYSPYGYGMDV**WGQGTTVTVSS (SEQ ID n.º: 303)							
Secuencia VL*: DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC**QASQSIDSWLA**WYQQKPGKAPKLLIY**SASYLES**GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYC**QRFQSLPPFT**FGGGTKVEIK (SEQ ID n.º: 304)							
*Las secuencias CDR ejemplares abarcan los aminoácidos según lo determinado por Kabat más Chothia							

Tabla 14: CDR de consenso

Grupo de anticuerpo		**1**	**25**	**29**	**39**	**43**	**54**
Sec. VHCDR*	*VHCDR1*	GFTFSx[D/S]YAMx[A/G] (SEQ ID n.º: 773)	GYTFx[D/R]x[S/V]YGIS (SEQ ID n.º: 779)	GFTFx[H/R]Sx[R/Y]GMH (SEQ ID n.º: 785)	GGTFSSNAIG (SEQ ID n.º: 791)	GGSx[I/L]SSGx[Q/Y]YWS (SEQ ID n.º: 797)	GYTFANYYMH (SEQ ID n.º: 803)
	VHCDR2	x[A/T]ISGSGGLTYYADSVKG (SEQ ID n.º: 774)	Wx[I/V]APYx[S/N]GNTNYAQKLQG (SEQ ID n.º: 780)	VITYDGINKYYADSVEG (SEQ ID n.º: 786)	SIIPIIGFANYAQKFQG (SEQ ID n.º: 792)	EIx[Y/G]x[Y/A]SGSTRYNPSLKS (SEQ ID n.º: 798)	IINPSGGITVYAQKFQG (SEQ ID n.º: 804)
	VHCDR3	APYGYYMDV (SEQ ID n.º: 775)	DAGTYSPx[F/Y]GYGMDV (SEQ ID n.º: 781)	DGVYYGVYDY (SEQ ID n.º: 787)	DSGYYYGASSFGMDV	Dx[T/A]PYYYx[E/G/D]GGYYYYMDV (SEQ ID n.º: 799)	GGSKVAALAFDI (SEQ ID

					(SEQ ID n.º: 793)		n.º: 805)
	VLCDR1	RASQSISSWLA (SEQ ID n.º: 776)	x[R/Q]ASx[Q/E/H]SIx[S/D/N]x[S/N]WLA (SEQ ID n.º: 782)	KSSQSVLFSSNNKNYLA (SEQ ID n.º: 788)	RASQSVSSNLA (SEQ ID n.º: 794)	RASx[Q/E/D]SVx[S/D]SSx[Y/F]LA (SEQ ID n.º: 800)	QASQDISNSLN (SEQ ID n.º: 806)
Sec. VLCDR*	*VLCDR2*	KASSLES (SEQ ID n.º: 777)	x[K/S]Ax[S/Y]x[S/Y/N]LEx[S/Y] (SEQ ID n.º: 783)	WASTRES (SEQ ID n.º: 789)	GASTRAT (SEQ ID n.º: 795)	GAx[S/D/F/Y]x[S/T]Rx[A/Q]x[T/N] (SEQ ID n.º: 801)	DASNLET (SEQ ID n.º: 807)
	VLCDR3	QQYKSYIT (SEQ ID n.º: 778)	Qx[Q/L/R]FQx[S/K]LPPFT (SEQ ID n.º: 784)	QQFHSYPLT (SEQ ID n.º: 790)	EQYNNLPLT (SEQ ID n.º: 796)	QQx[V/A/D]GVVPYT (SEQ ID n.º: 802)	QQYNFHPLT (SEQ ID n.º: 808)
*Las secuencias CDR ejemplares abarcan los aminoácidos según lo determinado por Kabat más Chothia							

Tabla 15: Secuencias de TF humano, de macaco y de ratón

Especies	**Humano (*Homo sapiens*)**	**Macaco (*Macaca fascicularis*)**	**Ratón (*Mus musculus*)**
Secuencia de longitud completa [secuencia señalizadora subrayada]	METPAWPRVPRPETAVARTLLLGWVFAQVAGASGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISTKSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFREIFYIIGAVVFVVIILVIILAISLHKCRKAGVGQSWKENSPLNVS (SEQ ID n.º: 809)	METPAWPRVPRPETAVARTLLLGWVFAQVAGASGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPINQVYTVQISTKSGDWKSKCFYTADTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGHVESTGSTEEPPYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTKVNVTVQDEWTLVRRNDTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRRTANRKSTDSPVECMGHEKGESREIFYIIGAVVFVVIILVIILAISLHKCKKARVGRSWKENSPLNVA (SEQ ID n.º: 813)	MAILVRPRLLAALAPTFLGCLLLQVTAGAGIPEKAFNLTWISTDFKTILEWQPKPTNYTYTVQISDRSRNWKNKCFSTTDTECDLTDEIVKDVTWAYEAKVLSVPRRNSVHGDGDQLVIHGEEPPFTNAPKFLPYRDTNLGQPVIQQFEQDGRKLNVVVKDSLTLVRKNGTFLTLRQVFGKDLGYIITYRKGSSTGKKTNITNTNEFSIDVEEGVSYCFFVQAMIFSRKTNQNSPGSSTVCTEQWKSFLGETLIIVGAVVLLATIFIILLSISLCKRRKNRAGQKGKNTPSRLA (SEQ ID n.º: 817)

Especies	**Humano (*Homo sapiens*)**	**Macaco (*Macaca fascicularis*)**	**Ratón (*Mus musculus*)**
Dominio extracelular (ECD)	SGTTNTVAAYNL TWKSTNFKTILE WEPKPVNQVYTV QISTKSGDWKSK CFYTTDTECDLT DEIVKDVKQTYLA RVFSYPAGNVES TGSAGEPLYENS PEFTPYLETNLG QPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTL VRRNNTFLSLRD VFGKDLIYTLYYW KSSSSGKKTAKT NTNEFLIDVDKGE NYCFSVQAVIPSR TVNRKSTDSPVE CMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 810)	SGTTNTVAAYNL TWKSTNFKTILE WEPKPINQVYTV QISTKSGDWKSK CFYTADTECDLT DEIVKDVKQTYLA RVFSYPAGHVES TGSTEEPPYENS PEFTPYLETNLG QPTIQSFEQVGT KVNVTVQDEWTL VRRNDTFLSLRD VFGKDLIYTLYYW KSSSSGKKTAKT NTNEFLIDVDKGE NYCFSVQAVIPS RRTANRKSTDSP VECMGHEKGES RE (SEQ ID n.º: 814)	AGIPEKAFNLTWISTD FKTILEWQPKPTNYTY TVQISDRSRNWKNKC FSTTDTECDLTDEIVK DVTWAYEAKVLSVPR RNSVHGDGDQLVIHG EEPPFTNAPKFLPYR DTNLGQPVIQQFEQD GRKLNVVVKDSLTLV RKNGTFLTLRQVFGK DLGYIITYRKGSSTGK KTNITNTNEFSIDVEE GVSYCFFVQAMIFSR KTNQNSPGSSTVCTE QWKSFLGE (SEQ ID n.º: 818)
Secuencia de la proteína ECD-His (TF-His) de TF	SGTTNTVAAYNL TWKSTNFKTILE WEPKPVNQVYTV QISTKSGDWKSK CFYTTDTECDLT DEIVKDVKQTYLA RVFSYPAGNVES	SGTTNTVAAYNL TWKSTNFKTILE WEPKPINQVYTV QISTKSGDWKSK CFYTADTECDLT DEIVKDVKQTYLA RVFSYPAGHVES	AGIPEKAFNLTWISTD FKTILEWQPKPTNYTY TVQISDRSRNWKNKC FSTTDTECDLTDEIVK DVTWAYEAKVLSVPR RNSVHGDGDQLVIHG EEPPFTNAPKFLPYR

Especies	**Humano (*Homo sapiens*)**	**Macaco (*Macaca fascicularis*)**	**Ratón (*Mus musculus*)**
	TGSAGEPLYENS PEFTPYLETNLG QPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTL VRRNNTFLSLRD VFGKDLIYTLYYW KSSSSGKKTAKT NTNEFLIDVDKGE NYCFSVQAVIPSR TVNRKSTDSPVE CMGQEKGEFRET GHHHHHH (SEQ ID n.º: 811)	TGSTEEPPYENS PEFTPYLETNLG QPTIQSFEQVGT KVNVTVQDEWTL VRRNDTFLSLRD VFGKDLIYTLYYW KSSSSGKKTAKT NTNEFLIDVDKGE NYCFSVQAVIPS RRTANRKSTDSP VECMGHEKGES RETGHHHHHH (SEQ ID n.º: 815)	DTNLGQPVIQQFEQD GRKLNVVVKDSLTLV RKNGTFLTLRQVFGK DLGYIITYRKGSSTGK KTNITNTNEFSIDVEE GVSYCFFVQAMIFSR KTNQNSPGSSTVCTE QWKSFLGETGHHHH HH (SEQ ID n.º: 819)
Secuencia de la proteína de fusión ECD-Fc (TF-Fc) de TF	SGTTNTVAAYNL TWKSTNFKTILE WEPKPVNQVYTV QISTKSGDWKSK CFYTTDTECDLT DEIVKDVKQTYLA RVFSYPAGNVES TGSAGEPLYENS PEFTPYLETNLG QPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTL VRRNNTFLSLRD VFGKDLIYTLYYW KSSSSGKKTAKT	SGTTNTVAAYNL TWKSTNFKTILE WEPKPINQVYTV QISTKSGDWKSK CFYTADTECDLT DEIVKDVKQTYLA RVFSYPAGHVES TGSTEEPPYENS PEFTPYLETNLG QPTIQSFEQVGT KVNVTVQDEWTL VRRNDTFLSLRD VFGKDLIYTLYYW KSSSSGKKTAKT	AGIPEKAFNLTWISTD FKTILEWQPKPTNYTY TVQISDRSRNWKNKC FSTTDTECDLTDEIVK DVTWAYEAKVLSVPR RNSVHGDGDQLVIHG EEPPFTNAPKFLPYR DTNLGQPVIQQFEQD GRKLNVVVKDSLTLV RKNGTFLTLRQVFGK DLGYIITYRKGSSTGK KTNITNTNEFSIDVEE GVSYCFFVQAMIFSR KTNQNSPGSSTVCTE

Especies	Humano (*Homo sapiens*)	Macaco (*Macaca fascicularis*)	Ratón (*Mus musculus*)
	NTNEFLIDVDKGE NYCFSVQAVIPSR TVNRKSTDSPVE CMGQEKGEFRET GENLYFQGDKTH TCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREP QVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLS LSPGK (SEQ ID n.º: 812)	NTNEFLIDVDKGE NYCFSVQAVIPS RRTANRKSTDSP VECMGHEKGES RETGENLYFQGD KTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENN YKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK (SEQ ID n.º: 816)	QWKSFLGETGENLYF QGDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLS LSPGK (SEQ ID n.º: 820)

Tabla 16: **Secuencias de anticuerpos anti-FT**

Anticuerpo	Dominio VH	Dominio VL
10H10 (M1593)	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYTFAPYWIEWVRQMPGKGLEWMGDILPGTGFTTYSPSFQGHVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSGYYGNSGFAYWGQGTLVTVSS (SEQ ID n.º: 821)	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCKSSQSLLSSGNQKNYLTWYLQKPGQSPQLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQNDYTYPLTFGQGTKLEIK (SEQ ID n.º: 822)
TF-011	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGDYTYYTDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSPWGYYLDSWGQGTLVTVSS (SEQ ID n.º: 828)	DIQMTQSPPSLSASAGDRVTITCRASQGISSRLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID n.º: 829)
5G9 (TF8-5G9 humanizado, CNTO 860)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCKASGFNIKDYYMHWVRQAPGKGLEWIGLIDPENGNTIYDPKFQGRFTISADNSKNTLFLQMDSLRPEDTAVYYCARDNSYYFDYWGQGTPVTVSS (SEQ ID n.º: 830)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIRKYLNWYQQKPGKAPKLLIYYATSLADGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCLQHGESPYTFGQGTKLEIT (SEQ ID n.º: 831)

Tabla 17: Secuencias de TF de cerdo

Especies	**Cerdo (*Sus scrofa*)**
Secuencia de longitud completa [secuencia señalizadora subrayada]	MATPTGPPVSCPKAAVARALLLGWVLVQVAGATG TTDVIVAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPINYVYTVQI SPRLGDWKNKCFHTTDTECDVTDEIMRNVKETYV ARVLSYPADTVLTAQEPPFTNSPPFTPYLDTNLGQ PVIQSFEQVGTKLNVTVEAARTLVRVNGTFLRLRD VFGKDLNYTLYYWRASSTGKKKATTNTNEFLIDVD KGENYCFSVQAVIPSRRVNQKSPESRIECTSQEKA VSRELFLIVGAVVFAVIVFVLVLSVSLYKCRKERAG PSGKENAPLNVA (SEQ ID n.º: 824)
Dominio extracelular (ECD)	TGTTDVIVAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPINYVYTV QISPRLGDWKNKCFHTTDTECDVTDEIMRNVKET YVARVLSYPADTVLTAQEPPFTNSPPFTPYLDTNL GQPVIQSFEQVGTKLNVTVEAARTLVRVNGTFLRL RDVFGKDLNYTLYYWRASSTGKKKATTNTNEFLID VDKGENYCFSVQAVIPSRRVNQKSPESRIECTSQ EKAVSRE (SEQ ID n.º: 825)
Secuencia de la proteína ECD-His (TF-His) de TF	TGTTDVIVAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPINYVYTV QISPRLGDWKNKCFHTTDTECDVTDEIMRNVKET YVARVLSYPADTVLTAQEPPFTNSPPFTPYLDTNL GQPVIQSFEQVGTKLNVTVEAARTLVRVNGTFLRL RDVFGKDLNYTLYYWRASSTGKKKATTNTNEFLID VDKGENYCFSVQAVIPSRRVNQKSPESRIECTSQ EKAVSRETGHHHHHH (SEQ ID n.º: 826)
Secuencia de la proteína de fusión ECD-Fc (TF-Fc) de TF	TGTTDVIVAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPINYVYTV QISPRLGDWKNKCFHTTDTECDVTDEIMRNVKET YVARVLSYPADTVLTAQEPPFTNSPPFTPYLDTNL GQPVIQSFEQVGTKLNVTVEAARTLVRVNGTFLRL RDVFGKDLNYTLYYWRASSTGKKKATTNTNEFLID

Especies	Cerdo (*Sus scrofa*)
	VDKGENYCFSVQAVIPSRRVNQKSPESRIECTSQ EKAVSRETGENLYFQGDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK (SEQ ID n.º: 827)

Tabla 18: Secuencias de TF de conejo

Especies	Conejo (*Oryctolagus cuniculus*)
Secuencia de longitud completa [secuencia señalizadora subrayada]	MAPPTRLQVPRPGTAVPYTVLLGWLLAQVARAAD TTGRAYNLTWKSTNFKTILEWEPKSIDHVYTVQIST RLENWKSKCFLTAETECDLTDEVVKDVGQTYMAR VLSYPARNGNTTGFPEEPPFRNSPEFTPYLDTNL GQPTIQSFEQVGTKLNVTVQDARTLVRRNGTFLSL RAVFGKDLNYTLYYWRASSTGKKTATTNTNEFLID VDKGENYCFSVQAVIPSRKRKQRSPESLTECTSR EQGRAREMFFIIGAVVVVALLIIVLSVTVYKCRKAR AGPSGKESSPLNIA (SEQ ID n.º: 832)
Dominio extracelular (ECD)	ADTTGRAYNLTWKSTNFKTILEWEPKSIDHVYTVQ ISTRLENWKSKCFLTAETECDLTDEVVKDVGQTY MARVLSYPARNGNTTGFPEEPPFRNSPEFTPYLD TNLGQPTIQSFEQVGTKLNVTVQDARTLVRRNGT FLSLRAVFGKDLNYTLYYWRASSTGKKTATTNTNE FLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRKRKQRSPESLTEC TSREQGRAREM (SEQ ID n.º: 833)

Especies	Conejo (*Oryctolagus cuniculus*)
Secuencia de la proteína ECD-His (TF-His) de TF	ADTTGRAYNLTWKSTNFKTILEWEPKSIDHVYTVQ ISTRLENWKSKCFLTAETECDLTDEVVKDVGQTY MARVLSYPARNGNTTGFPEEPPFRNSPEFTPYLD TNLGQPTIQSFEQVGTKLNVTVQDARTLVRRNGT FLSLRAVFGKDLNYTLYYWRASSTGKKTATTNTNE FLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRKRKQRSPESLTEC TSREQGRAREMTGHHHHHH (SEQ ID n.º: 834)
Secuencia de la proteína de fusión ECD-Fc (TF-Fc) de TF	ADTTGRAYNLTWKSTNFKTILEWEPKSIDHVYTVQ ISTRLENWKSKCFLTAETECDLTDEVVKDVGQTY MARVLSYPARNGNTTGFPEEPPFRNSPEFTPYLD TNLGQPTIQSFEQVGTKLNVTVQDARTLVRRNGT FLSLRAVFGKDLNYTLYYWRASSTGKKTATTNTNE FLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRKRKQRSPESLTEC TSREQGRAREMENLYFQGDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID n.º: 835)

Tabla 19: Secuencias de ECD de TF de rata y ECD de constructo quimérico

Rata/constructo quimérico	Secuencia del dominio extracelular (ECD)
rTF (TF de rata)	AGTPPGKAFNLTWISTDFKTILEWQPKPTNYTYTVQISDRS RNWKYKCTGTTDTECDLTDEIVKDVNWTYEARVLSVPWR NSTHGKETLFGTHGEEPPFTNARKFLPYRDTKIGQPVIQK

Rata/construcción quimérico	Secuencia del dominio extracelular (ECD)
	YEQGGTKLKVTVKDSFTLVRKNGTFLTLRQVFGNDLGYIL TYRKDSSTGRKTNTTHTNEFLIDVEKGVSYCFFAQAVIFSR KTNHKSPESITKCTEQWKSVLGE (SEQ ID n.º: 838)
h1-107_r	AGTPPGKAFNLTWISTDFKTILEWQPKPTNYTYTVQISDRS RNWKYKCTGTTDTECDLTDEIVKDVNWTYEARVLSVPWR NSTHGKETLFGTHGEEPPFTNARKFLPYRDTKLGQPTIQS FEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLY YWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSR TVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 839)
h1-77_r	AGTPPGKAFNLTWISTDFKTILEWQPKPTNYTYTVQISDRS RNWKYKCTGTTDTECDLTDEIVKDVNWTYEARVLSYPAG NVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGT KVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSS SSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRK STDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 840)
h1-38_r	AGTPPGKAFNLTWISTDFKTILEWQPKPTNYTYTVQISTKS GDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPAGN VESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVGTK VNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSSS SGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRKS TDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 841)
h39-77_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQISD RSRNWKYKCTGTTDTECDLTDEIVKDVNWTYEARVLSYP AGNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQV GTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWK SSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVN RKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 842)

Rata/construcción quimérico	Secuencia del dominio extracelular (ECD)
h78-107_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSVP WRNSTHGTHGEEPPFTNARKFLPYRDTKLGQPTIQSFEQ VGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYW KSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTV NRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 843)
h78-107_r.v2	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSVP WRNSTHGKETLFGTHGEEPPFTNARKFLPYRDTKLGQPTI QSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIY TLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVI PSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 844)
h78-93_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSVP WRNSTHGKETLFGTHGEEPPYENSPEFTPYLETNLGQPTI QSFEQVGTKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIY TLYYWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVI PSRTVNRKSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 845)
h94-107_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLFTNARKFLPYRDTKLGQPTIQSFEQVG TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNR KSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 846)
h108-219_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNIGQPVIQKYEQGG

Rata/construcción quimérico	Secuencia del dominio extracelular (ECD)
	TKLKVTVKDSFTLVRKNGTFLTLRQVFGNDLGYILTYRKDS STGRKTNTTHTNEFLIDVEKGVSYCFFAQAVIFSRKTNHKS PESITKCTEQWKSVLGE (SEQ ID n.º: 847)
h108-158_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNIGQPVIQKYEQGG TKLKVTVKDSFTLVRKNGTFLTLRQVFGNDLGYILTYRKSS SSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRK STDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 848)
h108-132_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNIGQPVIQKYEQGG TKLKVTVKDSFTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKSS SSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRK STDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 849)
h133-158_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG TKVNVTVEDERTLVRKNGTFLTLRQVFGNDLGYILTYRKS SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNR KSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 850)
h133-145_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG TKVNVTVEDERTLVRKNGTFLTLRQVFGKDLIYTLYYWKS SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNR KSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 851)

Rata/construcción quimérico	Secuencia del dominio extracelular (ECD)
h133-139_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG TKVNVTVEDERTLVRKNGTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNR KSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 852)
h140-145_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLTLRQVFGKDLIYTLYYWKS SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNR KSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 853)
h146-158_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGNDLGYILTYRKS SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNR KSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 854)
h146-151_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGNDLIYTLYYWKS SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNR KSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 855)
h152-158_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG

Rata/construcción quimérico	Secuencia del dominio extracelular (ECD)
	TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLGYILTYRKSS SSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNRK STDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 856)
h159-219_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKD SSTGRKTNTTHTNEFLIDVEKGVSYCFFAQAVIFSRKTNHK SPESITKCTEQWKSVLGE (SEQ ID n.º: 857)
h159-189_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKD SSTGRKTNTTHTNEFLIDVEKGVSYCFFAQAVIPSRTVNRK STDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 858)
h159-174_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKD SSTGRKTNTTHTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNR KSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 859)
h159-166_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKD SSTGRKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNR KSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 860)

Rata/construcción quimérico	Secuencia del dominio extracelular (ECD)
h167-174_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS SSSGKKTNTTHTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNR KSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 861)
h175-189_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS SSSGKKTAKTNTNEFLIDVEKGVSYCFFAQAVIPSRTVNRK STDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 862)
h190-219_r	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIFSRKTNH KSPESITKCTEQWKSVLGE (SEQ ID n.º: 863)
hTF_K68N	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVNQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNR KSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 865)
hTF_K149N	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG

Rata/construcción quimérico	Secuencia del dominio extracelular (ECD)
	TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGNDLIYTLYYWKS SSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRTVNR KSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 866)
hTF_N171H_T197K	SGTTNTVAAYNLTWKSTNFKTILEWEPKPVNQVYTVQIST KSGDWKSKCFYTTDTECDLTDEIVKDVKQTYLARVFSYPA GNVESTGSAGEPLYENSPEFTPYLETNLGQPTIQSFEQVG TKVNVTVEDERTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLYYWKS SSSGKKTAKTHTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIPSRKVNR KSTDSPVECMGQEKGEFRE (SEQ ID n.º: 867)
r141-194_h	AGTPPGKAFNLTWISTDFKTILEWQPKPTNYTYTVQISDRS RNWKYKCTGTTDTECDLTDEIVKDVNWTYEARVLSVPWR NSTHGKETLFGTHGEEPPFTNARKFLPYRDTKIGQPVIQK YEQGGTKLKVTVKDSFTLVRRNNTFLSLRDVFGKDLIYTLY YWKSSSSGKKTAKTNTNEFLIDVDKGENYCFSVQAVIFSR KTNHKSPESITKCTEQWKSVLGE (SEQ ID n.º: 864)

Tabla 20: Consenso sobre secuencias de región variables

Grupo	Consenso sobre dominios VH (SEQ ID n.º)	Consenso sobre dominios VL (SEQ ID n.º)
Linaje 25A	QVQLVQSGAEVKKPGAS VKVSCKASGYTFDx[V/A]Y GISWVRQAPGQGLEWM GWIAPYx[N/S]GNTNYAQ KLQGRVTMTTDTSTSTAY MELRSLRSDDTAVYYCA RDAGTYSPFGYGMDVW	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCx[R/Q]ASx[Q/E]SIx[S/N]x[S/N]WLAW YQQKPGKAPKLLIYKAx[S/Y]x[S/N] LEx[S/Y]GVPSRFSGSGSGTEFTLT ISSLQPDDFATYYCQx[Q/L]FQx[S/ K]LPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID n.º: 869)

Grupo	Consenso sobre dominios VH (SEQ ID n.º)	Consenso sobre dominios VL (SEQ ID n.º)
	GQGTTVTVSS (SEQ ID n.º: 868)	
Linaje 25G	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRSYGISWVRQAPGQGLEWMGWVAPYx[N/S]GNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSPYGYGMDVWGQGTTVTVSS (SEQ ID n.º: 870)	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCx[R/Q]ASx[Q/H]SIx[S/D]SWLAWYQQKPGKAPKLLIYx[K/S]ASx[S/Y]LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQx[Q/L/R]FQSLPPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID n.º: 871)

Tabla 21: CDR de consenso

Grupo de anticuerpo		Linaje 25A	Linaje 25G
Sec. VH CDR*	*VH CDR1*	GYTFDx[V/A]YGIS (SEQ ID n.º: 872)	GYTFRSYGIS (SEQ ID n.º: 878)
	VH CDR2	WIAPYx[N/S]GNTNYAQKLQG (SEQ ID n.º: 873)	WVAPYx[N/S]GNTNYAQKLQG (SEQ ID n.º: 879)
	VH CDR3	DAGTYSPFGYGMDV (SEQ ID n.º: 874)	DAGTYSPYGYGMDV (SEQ ID n.º: 880)
Sec. VL CDR*	*VL CDR1*	x[R/Q]ASx[Q/E]SIx[S/N]x[S/N]WLA (SEQ ID n.º: 875)	x[R/Q]ASx[Q/H]SIx[S/D]SWLA (SEQ ID n.º: 881)
	VL CDR2	KAx[S/Y]x[S/N]LEx[S/Y]	x[K/S]ASx[S/Y]LES (SEQ ID n.º: 882)

		(SEQ ID n.º: 876)	
	VL CDR3	Qx[Q/L]FQx[S/K]LPPFT (SEQ ID n.º: 877)	Qx[Q/L/R]FQSLPPFT (SEQ ID n.º: 883)

*Las secuencias CDR ejemplares abarcan los aminoácidos según lo determinado por Kabat más Chothia

Tabla 22: Secuencias de anticuerpos

regiones variables en negritas; cisteínas implicadas en la conjugación del fármaco subrayadas

Clon	**CADENA PESADA**	**CADENA LIGERA**
25A	**QVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFDVYGISWV RQAPGQGLEWMGWIAPYS GNTNYAQKLQGRVTMTTDT STSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARDAGTYSPFGYGMDV WGQGTTVTVSS**ASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTK	**DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCR ASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTE FTLTISSLQPDDFATYYCQQFQSL PPFTFGGGTKVEIK**RTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC

Clon	CADENA PESADA	CADENA LIGERA
	NQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG	
25A3	**QVQLVQSGAEVKKPGASV** **KVSCKASGYTFDVYGISWV** **RQAPGQGLEWMGWIAPYS** **GNTNYAQKLQGRVTMTTDT** **STSTAYMELRSLRSDDTAV** **YYCARDAGTYSPFGYGMDV** **WGQGTTVTVSS**ASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQ	**DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQ** **ASQSINNWLAWYQQKPGKAPKL** **LIYKAYNLESGVPSRFSGSGSGTE** **FTLTISSLQPDDFATYYCQLFQSL** **PPFTFGGGTKVEIK**RTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC

Clon	CADENA PESADA	CADENA LIGERA
	QGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG	
25A5	**QVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFDVYGISWV RQAPGQGLEWMGWIAPYS GNTNYAQKLQGRVTMTTDT STSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARDAGTYSPFGYGMDV WGQGTTVTVSS**ASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG	**DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCR ASESISNWLAWYQQKPGKAPKLL IYKAYSLEYGVPSRFSGSGSGTEF TLTISSLQPDDFATYYCQQFQKLP PFTFGGGTKVEIK**RTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
25A5T	**QVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFDAYGISWV**	**DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCR ASESISNWLAWYQQKPGKAPKLL**

Clon	CADENA PESADA	CADENA LIGERA
	RQAPGQGLEWMGWIAPYS **GNTNYAQKLQGRVTMTTDT** **STSTAYMELRSLRSDDTAV** **YYCARDAGTYSPFGYGMDV** **WGQGTTVTVSS**ASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG	**IYKAYSLEYGVPSRFSGSGSGTEF** **TLTISSLQPDDFATYYCQQFQKLP** **PFTFGGGTKVEIK**RTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
25G	**QVQLVQSGAEVKKPGASV** **KVSCKASGYTFRSYGISWV** **RQAPGQGLEWMGWVAPY** **NGNTNYAQKLQGRVTMTTD** **TSTSTAYMELRSLRSDDTA** **VYYCARDAGTYSPYGYGM**	**DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCR** **ASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL** **LIYKASSLESGVPSRFSGSGSGTE** **FTLTISSLQPDDFATYYCQQFQSL** **PPFTFGGGTKVEIK**RTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR

Clon	CADENA PESADA	CADENA LIGERA
	DVWGQGTTVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNV NHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG	EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC
25G1	**QVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFRSYGISWV RQAPGQGLEWMGWVAPYS GNTNYAQKLQGRVTMTTDT STSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARDAGTYSPYGYGMD VWGQGTTVTVSS**ASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLS	**DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCR ASHSIDSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASYLESGVPSRFSGSGSGTE FTLTISSLQPDDFATYYCQLFQSL PPFTFGGGTKVEIK**RTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC

Clon	CADENA PESADA	CADENA LIGERA
	SVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG	
25G9	**QVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFRSYGISWV RQAPGQGLEWMGWVAPYS GNTNYAQKLQGRVTMTTDT STSTAYMELRSLRSDDTAV YYCARDAGTYSPYGYGMD VWGQGTTVTVSS**ASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCV	**DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQ ASQSIDSWLAWYQQKPGKAPKL LIYSASYLESGVPSRFSGSGSGTE FTLTISSLQPDDFATYYCQRFQSL PPFTFGGGTKVEIK**RTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC

Clon	CADENA PESADA	CADENA LIGERA
	VVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG	
Consenso del linaje 25A	**QVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFDx[V/A]YGI SWVRQAPGQGLEWMGWIA PYx[N/S]GNTNYAQKLQGR VTMTTDTSTSTAYMELRSL RSDDTAVYYCARDAGTYSP FGYGMDVWGQGTTVTVSS** ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVE PKSCDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIE	**DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCx[R/Q]ASx[Q/E]SIx[S/N]x[S/N]WLA WYQQKPGKAPKLLIYKAx[S/Y]x[S/N]LEx[S/Y]GVPSRFSGSGSGTE FTLTISSLQPDDFATYYCQx[Q/L]F Qx[S/K]LPPFTFGGGTKVEIK**RTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC

Clon	CADENA PESADA	CADENA LIGERA
	KTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG	

REIVINDICACIONES

1. Un conjugado anticuerpo y fármaco que comprende:

a. una proteína de unión al antígeno (Ab) que se une al domino extracelular del factor tisular (TF) humano (SEQ ID n.º: 810), donde el Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2 y una VL-CDR3, donde

i. la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 877,

ii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A3,

iii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A,

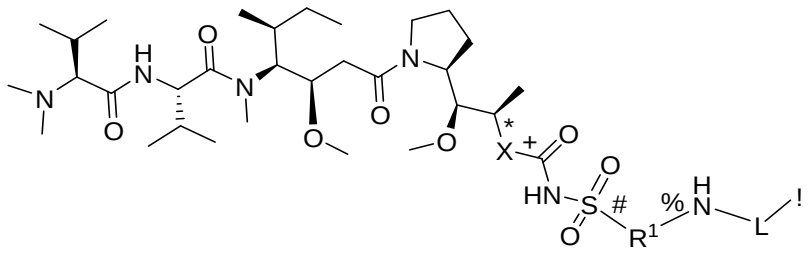
iv. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5,

v. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5-T o

vi. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25G1;

y

b. una o más fracciones de toxinas y conectores representados por la Fórmula IV:



Fórmula IV

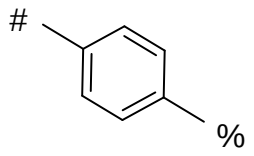
CARACTERIZADO POR QUE:

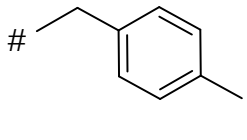
X es *-C(O)NHCH(CH_2(R^2))-$^{+}$, donde * y + representan los respectivos puntos de unión, como se indica en la Fórmula IV, o X está ausente;

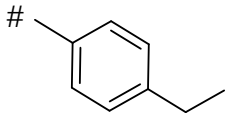
L es un conector;

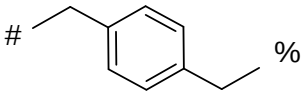
! representa el punto de unión de L con el Ab, donde L se une al Ab mediante un enlace covalente;

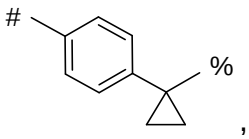
R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



,


,


,


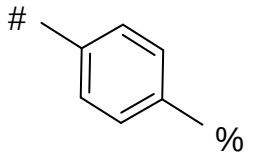
y


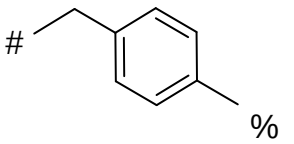
,

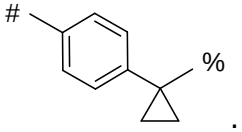
donde # y % representan los respectivos puntos de unión, como se indica en la Fórmula IV y

R^2 es fenilo.

2. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 1, CARACTERIZADO POR QUE R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



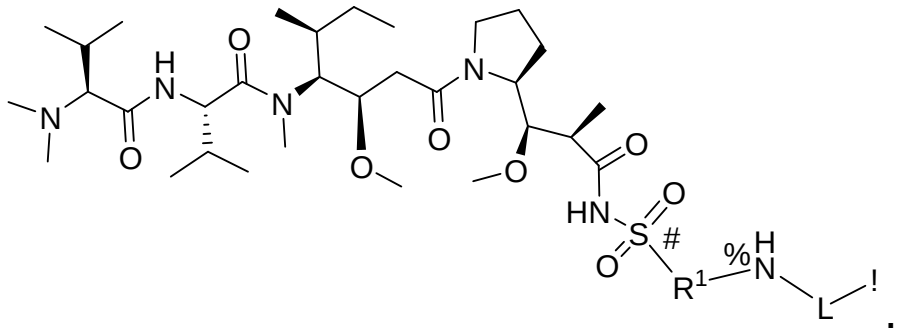
,


y


.

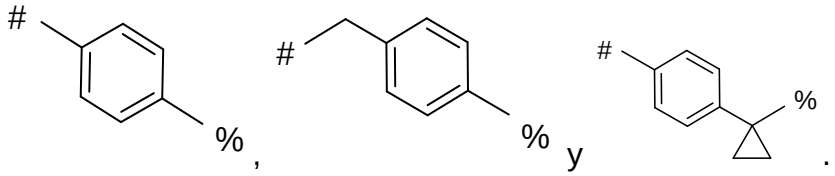
3. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 1 o de la reivindicación 2, CARACTERIZADO POR QUE X está ausente.

4. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 3, CARACTERIZADO POR QUE la porción enlace-toxina de la Fórmula IV está representada por la Fórmula V:

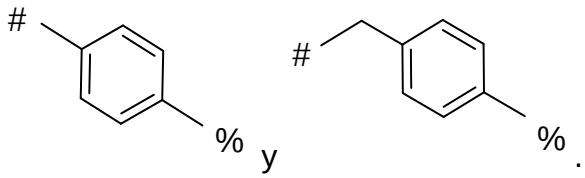


Fórmula V

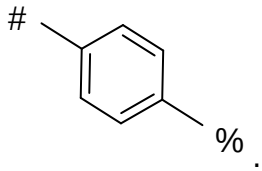
5. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 4, CARACTERIZADO POR QUE R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



6. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 4 o de la reivindicación 5, CARACTERIZADO POR QUE R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



7. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 4 a la 6, CARACTERIZADO POR QUE R^1 es:



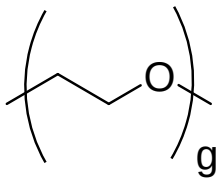
8. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones anteriores, CARACTERIZADO POR QUE L es un conector escindible.

9. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones anteriores, CARACTERIZADO POR QUE L es un conector que contiene péptidos.

10. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones anteriores, CARACTERIZADO POR QUE L es un conector escindible por peptidasa.

11. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 7, CARACTERIZADO POR QUE L es un conector seleccionado de uno de éster N-(β-maleimidopropiloxi)-N-hidroxi succinimida (BMPS), éster N-(ε-maleimidocaproiloxi) succinimida (EMCS), éster N-[γ-maleimidobutiriloxi]succinimida (GMBS), 1,6-hexano-bis-vinilsulfona (HBVS), succinimidil 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxi-(6-amidocaproato) (LC-SMCC), éster m-maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimida (MBS), ácido 4-(4-N-Maleimidofenil)butírico hidrazida (MPBH), succinimidil 3-(bromoacetamido)propionato (SBAP), succinimidil yodoacetato (SIA), succinimidil (4-yodoacetil)aminobenzoato (SIAB), N-succinimidil-3-(2-piridilditio) propionato (SPDP), N-succinimidil-4-(2-piridiltio)pentanoato (SPP), succinimidil 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato (SMCC), succinimidil 4-(p-maleimidofenil)butirato (SMPB), succinimidil 6-[(β-maleimidopropionamido)hexanoato] (SMPH), iminotiolano (IT), sulfo-EMCS, sulfo-GMBS, sulfo-KMUS, sulfo-MBS, sulfo-SIAB, sulfo-SMCC, sulfo-SMPB y succinimidil-(4-vinilsulfona)benzoato (SVSB).

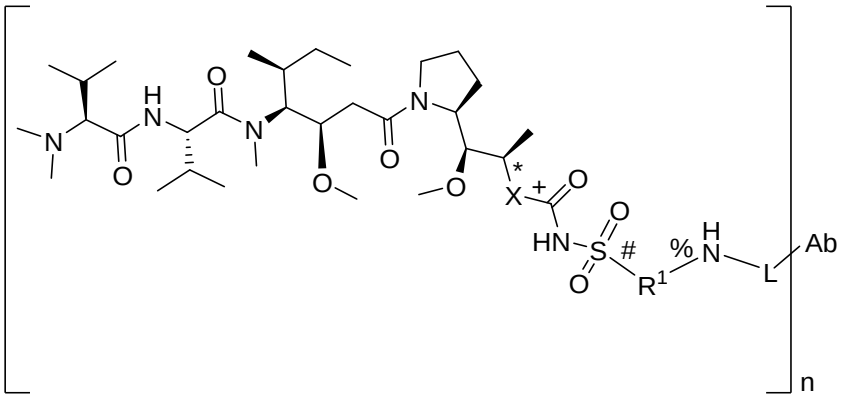
12. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 7, CARACTERIZADO POR QUE L comprende una cadena de poli(etilen)glicol de la fórmula:



donde g es un número entero del 1 al 20.

13. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 12, CARACTERIZADO POR QUE g es 3.

14. Un conjugado anticuerpo y fármaco de la Fórmula VI:



Fórmula VI

CARACTERIZADO POR QUE:

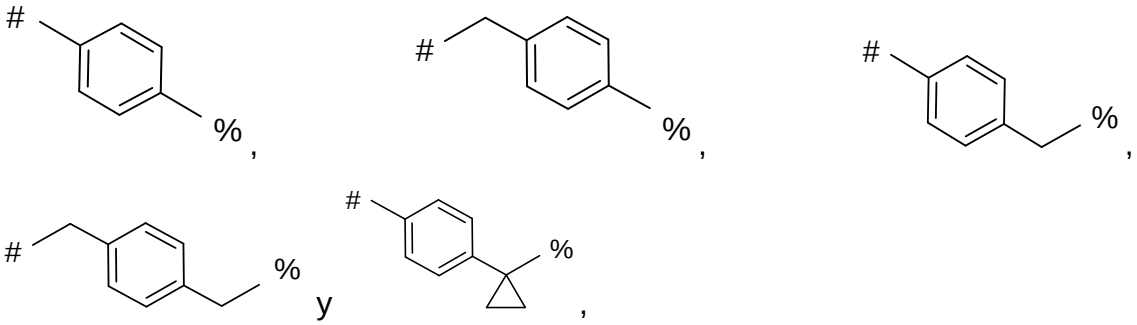
Ab representa un anticuerpo contra el factor tisular (TF);

n es un número entero mayor que o igual a 1;

X es *-C(O)NHCH(CH_2(R^2))-$^{+}$, donde * y + representan los puntos de unión respectivos conforme se indica en la Fórmula VI o X está ausente;

L es un conector;

R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



donde # y % representan los puntos de unión respectivos conforme se indica en la Fórmula VI y

R^2 es fenilo; y donde

Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2, y una VL-CDR3, donde

i. la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1 comprende

la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 877,

ii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A3,

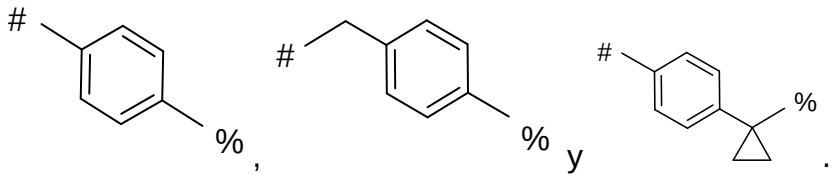
iii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A,

iv. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5,

v. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5-T o

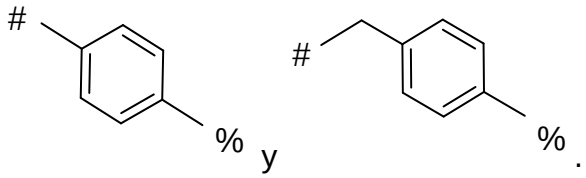
vi. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25G1.

15. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 14, CARACTERIZADO POR QUE R^1 se selecciona del grupo que consiste en:

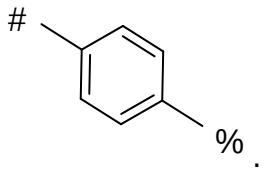


16. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 14 o 15, CARACTERIZADO POR QUE X está ausente.

17. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 15 o de la reivindicación 16, CARACTERIZADO POR QUE R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



18. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 15 a la 17, CARACTERIZADO POR QUE R^1 es:



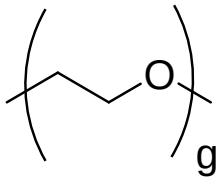
19. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 16 a la 17, CARACTERIZADO POR QUE L es un conector escindible.

20. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 14 a la 19, CARACTERIZADO POR QUE L es un conector que contiene péptidos.

21. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 14 a la 19, CARACTERIZADO POR QUE L es un conector escindible por peptidasa.

22. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 14 a la 19, CARACTERIZADO POR QUE L es un conector seleccionado de uno de éster N-(β-maleimidopropiloxi)-N-hidroxi succinimida (BMPS), éster N-(ε-maleimidocaproiloxi) succinimida (EMCS), éster N-[γ-maleimidobutiriloxi]succinimida (GMBS), 1,6-hexano-bis-vinilsulfona (HBVS), succinimidil 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxi-(6-amidocaproato) (LC-SMCC), éster m-maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimida (MBS), ácido 4-(4-N-Maleimidofenil)butírico hidrazida (MPBH), succinimidil 3-(bromoacetamido)propionato (SBAP), succinimidil yodoacetato (SIA), succinimidil (4-yodoacetil)aminobenzoato (SIAB), N-succinimidil-3-(2-piridilditio) propionato (SPDP), N-succinimidil-4-(2-piridiltio)pentanoato (SPP), succinimidil 4-(N-maleimidometil)ciclohexano-1-carboxilato (SMCC), succinimidil 4-(p-maleimidofenil)butirato (SMPB), succinimidil 6-[(β-maleimidopropionamido)hexanoato] (SMPH), iminotiolano (IT), sulfo-EMCS, sulfo-GMBS, sulfo-KMUS, sulfo-MBS, sulfo-SIAB, sulfo-SMCC, sulfo-SMPB y succinimidil-(4-vinilsulfona)benzoato (SVSB).

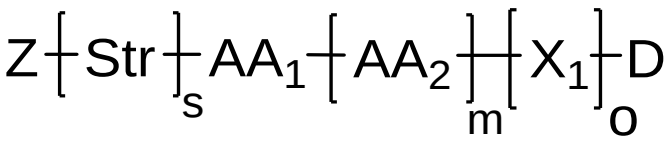
23. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 14 a la 19, CARACTERIZADO POR QUE L comprende una cadena de poli(etilen)glicol de la fórmula:



donde g es un número entero del 1 al 20.

24. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 23, CARACTERIZADO POR QUE g es 3.

25. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 14, CARACTERIZADO POR QUE L está representada por la Fórmula VII:



Fórmula VII

donde:

Z representa un grupo funcional que se une a un grupo diana del anticuerpo TF;

D representa el punto de unión al grupo amino como se indica en la Fórmula VI;

Str es un tensor;

AA_1 y AA_2 son cada uno, independientemente, un aminoácido, donde AA_1-$[AA_2]_m$ forma un lugar de escision de proteasa;

X_1 es un grupo autoinmolativo;

s es un número entero seleccionado de 0 y 1;

m es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3 y 4;

o es un número entero seleccionado de 0, 1 y 2.

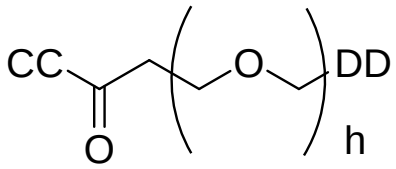
26. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 25, CARACTERIZADO POR QUE n es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4 y 5.

27. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación o de la reivindicación 25 o de la reivindicación 26, CARACTERIZADO POR QUE $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en alquileno, tensores con base en ácidos alifáticos, tensores con base en diácidos alifáticos, tensores con base en aminas alifáticas y tensores con base en diaminas alifáticas.

28. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 25 a la 27, CARACTERIZADO POR QUE $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en tensores con base en diglicolato, tensores con base en malonato, tensores con base en caproato y tensores con base en caproamida.

29. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 25 o de la reivindicación 26, CARACTERIZADO POR QUE $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en tensores con base en glicina, tensores con base en polietilenglicol y tensores con base en monometoxi polietilenglicol.

30. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 25 o de la reivindicación 26, CARACTERIZADO POR QUE $[Str]_s$ es:



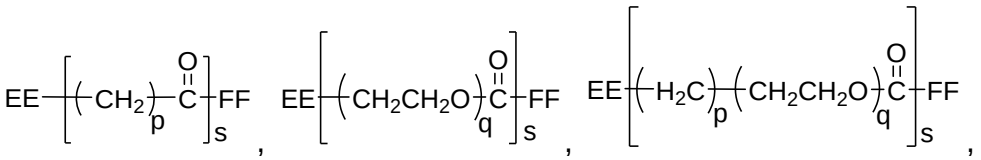
donde

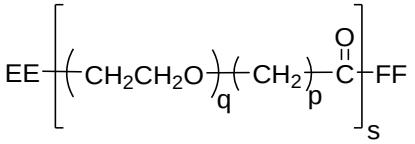
h es un número entero del 1 al 20,

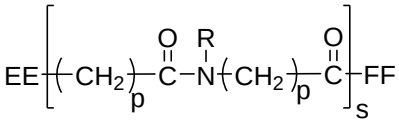
CC se refiere al punto de unión a AA_1 y

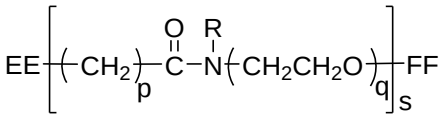
DD se refiere al punto de unión a Z.

31. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 25 o de la reivindicación 26, CARACTERIZADO POR QUE $[Str]_s$ se selecciona de:





,


y


;

donde:

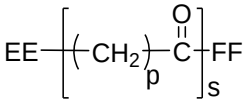
EE y FF representan los puntos de unión a Z y AA_1, respectivamente;

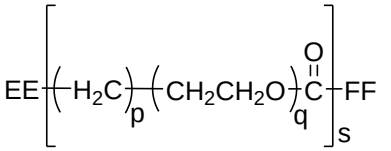
R se selecciona de hidrógeno y C_1-C_6-alquilo;

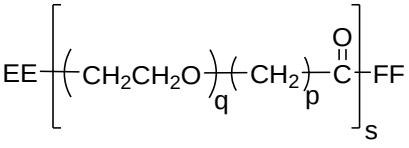
cada ocurrencia de p es independientemente un número entero del 2 al 10 y

cada ocurrencia de q es independientemente un número entero del 1 al 10.

32. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 25, de la reivindicación 26 o de la reivindicación 31, CARACTERIZADO POR QUE $[Str]_s$ se selecciona del grupo que consiste en:



,


y


,

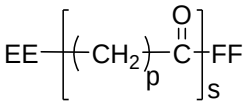
donde:

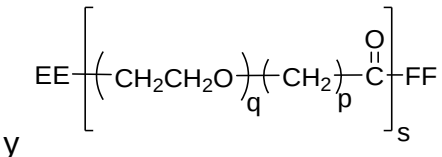
EE y FF representan los puntos de unión a Z y AA_1, respectivamente;

cada ocurrencia de p es independientemente un número entero del 2 al 10 y

cada ocurrencia de q es independientemente un número entero del 1 al 10.

33. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 25, de la reivindicación 26, de la reivindicación 31 o de la reivindicación 32, CARACTERIZADO POR QUE $[Str]_s$ se selecciona de:



y


,

donde:

EE y FF representan los puntos de unión a Z y AA_1, respectivamente;

cada ocurrencia de p es independientemente un número entero del 2 al 6 y q es un número entero del 2 al 8.

34. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 25 a la 33, CARACTERIZADO POR QUE AA_1-$[AA_2]_m$ se selecciona de Val-Lys, Ala-Lys, Phe-Lys, Val-Cit, Phe-Cit, Leu-Cit, Ile-Cit, Trp-Cit, Phe-Arg, Ala-Phe, Val-Ala, Met-Lys, Asn-Lys, Ile-Pro, Ile-Val, Asp-Val, His-Val, Met-(D)Lys, Asn-(D)Lys, Val-(D)Asp, NorVal-(D)Asp, Ala-(D)Asp, Me_3Lys-Pro, PhenylGly-(D)Lys, Met-(D)Lys, Asn-(D)Lys, Pro-(D)Lys, Met-(D)Lys, Met-Cit-Val, Gly-Cit-Val, (D)Phe-Phe-Lys, (D)Ala-Phe-Lys, Gly-Phe-Leu-Gly y Ala-Leu-Ala-Leu.

35. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 25 a la 34, CARACTERIZADO POR QUE m se selecciona de 1, 2 y 3.

36. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 25 a la 35, CARACTERIZADO POR QUE m es 1.

37. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 25 a la 36, CARACTERIZADO POR QUE AA_1-$[AA_2]_m$ es un dipéptido seleccionado de Val-Lys, Ala-Lys, Phe-Lys, Val-Cit, Phe-Cit, Leu-Cit, Ile-Cit y Trp-Cit.

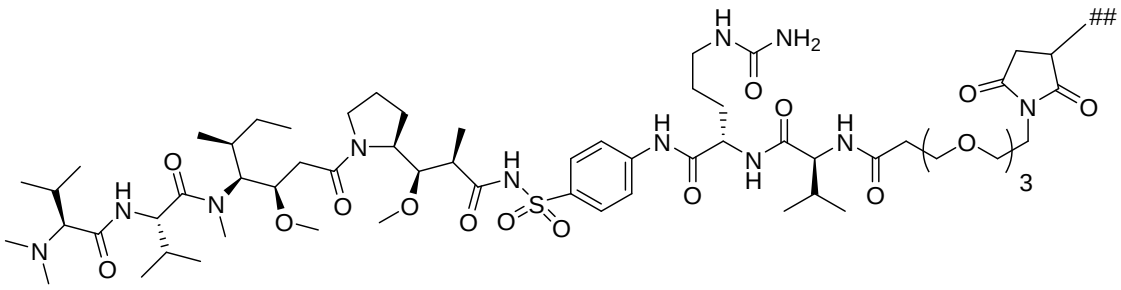
38. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 25 a la 37, CARACTERIZADO POR QUE cada X_1 se selecciona independientemente de p-aminobenciloxicarbonilo (PABC), éter p-aminobencilo (PABE) y etilendiamina metilada (MED).

39. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 30, CARACTERIZADO POR QUE s es 1 y h es 3.

40. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 25 a la 39, CARACTERIZADO POR QUE s es 1.

41. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 25 a la 40, CARACTERIZADO POR QUE o es 0.

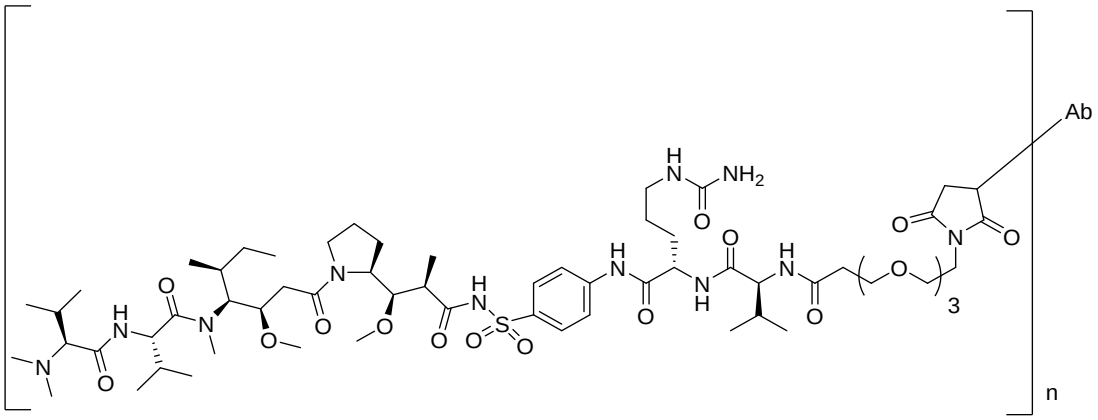
42. Un conjugado anticuerpo-fármaco que comprende una porción enlace-toxina de la Fórmula VIII:



Fórmula VIII

CARACTERIZADO POR QUE ## representa el punto de unión de la porción de enlace-toxina con el anticuerpo TF y la porción enlace-toxina está unida al anticuerpo a través de un enlace covalente

43. Un conjugado anticuerpo y fármaco de la Fórmula IX:



Fórmula IX

CARACTERIZADO POR QUE:

el Ab es un anticuerpo del factor tisular (TF), donde el Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2 y una VL-CDR3, donde

i. la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 877,

ii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A3,

iii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A,

iv. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5,

v. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5-T o

vi. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25G1,

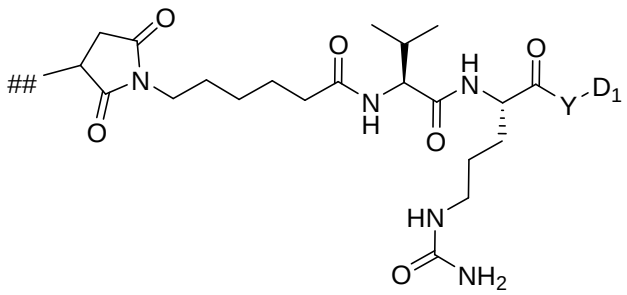
n es un número entero superior o igual a 1 y

el grupo succinimidilo está unido al Ab mediante un enlace covalente.

44. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 43, CARACTERIZADO POR QUE n se selecciona del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4 y 5.

45. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 43 o de la reivindicación 44, CARACTERIZADO POR QUE n se selecciona del grupo que consiste en 2, 3 y 4.

46. Un conjugado anticuerpo y fármaco que comprende un conector, conforme se representa mediante la Fórmula X:



Fórmula X

CARACTERIZADO POR QUE:

es el punto de unión al anticuerpo, y el grupo succinimidilo se une al anticuerpo mediante un enlace covalente;

Y es uno o más componentes de enlace adicionales o está ausente y

D_1 es el punto de unión a un agente citotóxico y donde

Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2, y una VL-CDR3, donde

i. la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 877,

ii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A3,

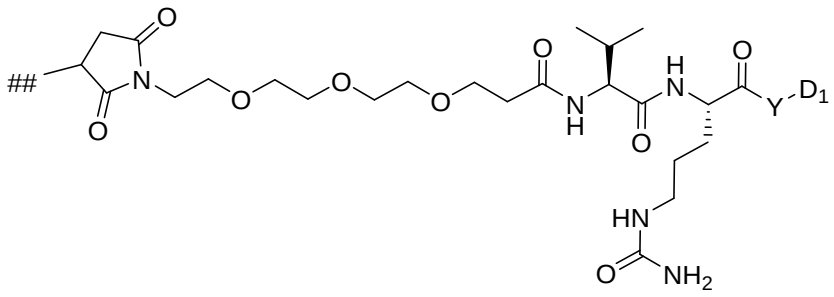
iii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A,

iv. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5,

v. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5-T o

vi. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25G1.

47. Un conjugado anticuerpo y fármaco que comprende un conector, conforme se representa mediante la Fórmula XI:



Fórmula XI

CARACTERIZADO POR QUE:

es el punto de unión al anticuerpo, y el grupo succinimidilo se une al anticuerpo mediante un enlace covalente;

Y es uno o más componentes de enlace adicionales o está ausente y

D_1 es el punto de unión a un agente citotóxico y donde

Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2, y una VL-CDR3, donde

i. la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 877,

ii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A3,

iii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A,

iv. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5,

v. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5-T o

vi. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25G1.

48. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 46 o de la reivindicación 47, CARACTERIZADO POR QUE el agente citotóxico se selecciona del grupo que consiste en un agente de diagnóstico, un quelante metálico, una enzima, un compuesto fluorescente, un compuesto bioluminiscente o un compuesto quimioluminiscente.

49. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 46 o de la reivindicación 47, CARACTERIZADO POR QUE el agente citotóxico es una carga útil citotóxica que tiene un perfil de seguridad mejorado.

50. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones anteriores, CARACTERIZADO POR QUE el Ab comprende:

a. una secuencia de VH que es la SEQ ID n.º 868 y una secuencia VL que es la SEQ ID n.°: 869,

b. una VH que es la SEQ ID n.º 151 y una secuencia VL que es la SEQ ID n.°: 152,

c. una secuencia de VH que es la SEQ ID n.º 113 y una secuencia VL que es la SEQ ID n.°: 114,

d. una secuencia de VH que es la SEQ ID n.º 189 y una secuencia VL que es la SEQ ID n.°: 190,

e. una secuencia de VH que es la SEQ ID n.º 836 y una secuencia VL que es la SEQ ID n.°: 837 o

f. una secuencia de VH que es la SEQ ID n.º 265 y una secuencia VL que es la SEQ ID n.°: 266.

51. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones anteriores, CARACTERIZADO POR QUE el Ab comprende:

a. una secuencia de cadena pesada que es QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDx[V/A]YGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPYx[N/S]GNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de cadena ligera que es DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCx[R/Q]ASx[Q/E]SIx[S/N]x[S/N]WLAWYQQKPGKAPKLLIYKAx[S/Y]x[S/N]LEx[S/Y]GVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQx[Q/L]FQx[S/K]LPPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC,

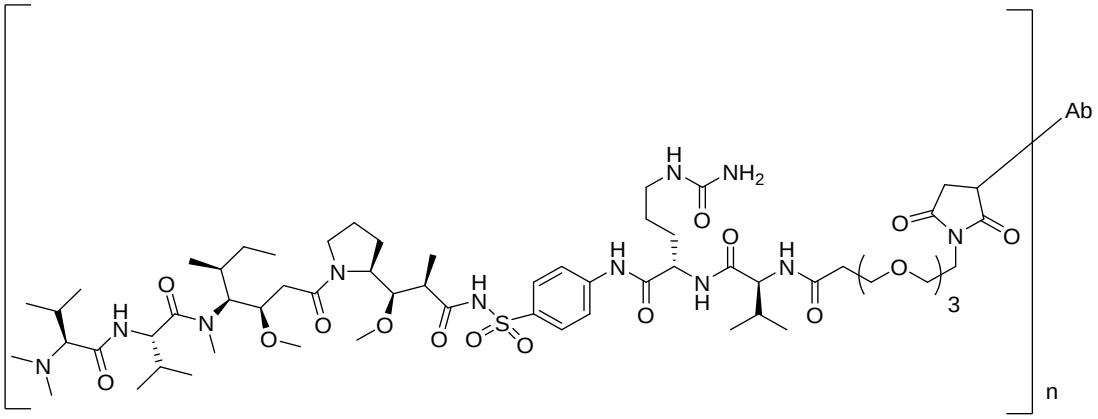
b. una secuencia de cadena pesada que es QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD

YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG Y UNA SECUENCIA DE
CADENA LIGERA QUE ES
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSINNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYN
LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC,
c. una secuencia de cadena pesada que es
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWI
APYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTY
SPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de
cadena ligera que es
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASS
LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQFQSLPPFTFGGGTKVE
IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC,
d. una secuencia de cadena pesada que es
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDAYGISWVRQAPGQGLEWMGWI

APYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTY
SPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD
YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN
VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS
RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM
TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de cadena ligera que es
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYSL
EYGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQFQKLPPFTFGGGTKVEI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC,
e. una secuencia de cadena pesada que es
QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRSYGISWVRQAPGQGLEWMGW
VAPYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGT
YSPYGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC
NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de cadena ligera que es
DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASHSIDSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASY
LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN
SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
GEC o

f. una secuencia de cadena pesada que es QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWI APYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTY SPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de cadena ligera que es DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASESISNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYSL EYGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQFQKLPPFTFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC.

52. Un conjugado anticuerpo y fármaco de la Fórmula IX:



Fórmula IX

CARACTERIZADO POR QUE:

el Ab es un anticuerpo del factor tisular (TF), donde el Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2 y una VL-CDR3 del anticuerpo designado 25A3 y

n es un número entero mayor que o igual a 1.

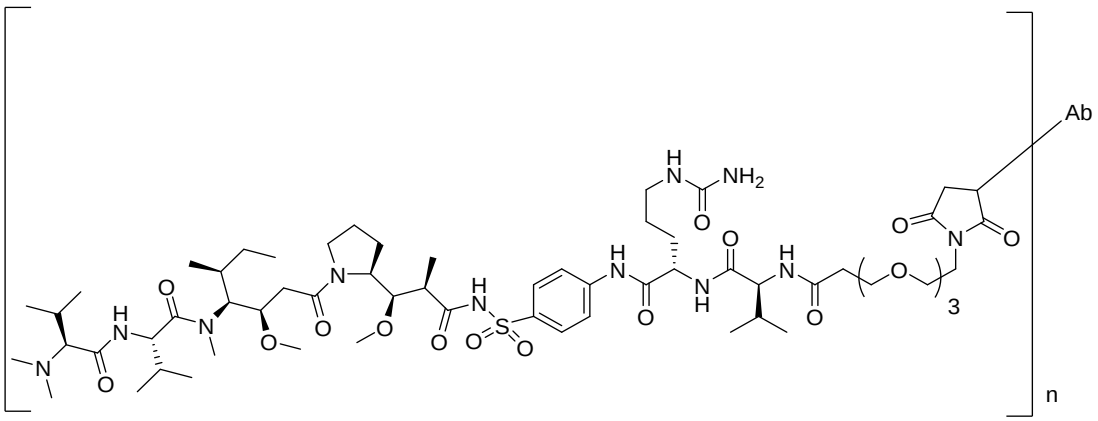
53. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 52, CARACTERIZADO POR QUE n se selecciona del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4 y 5.

54. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 52, CARACTERIZADO POR QUE n se selecciona del grupo que consiste en 2, 3 y 4.

55. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 52 a la 54, CARACTERIZADO POR QUE el Ab comprende una secuencia VH que es la SEQ ID n.°: 151 y una secuencia VL que es la SEQ ID n.°: 152.

56. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 52 a la 55, CARACTERIZADO POR QUE el Ab comprende una secuencia de cadena pesada completa que es QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y secuencia de cadena ligera que es DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSINNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYNLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC.

57. Un conjugado anticuerpo y fármaco de la Fórmula IX:



Fórmula IX

CARACTERIZADO POR QUE:

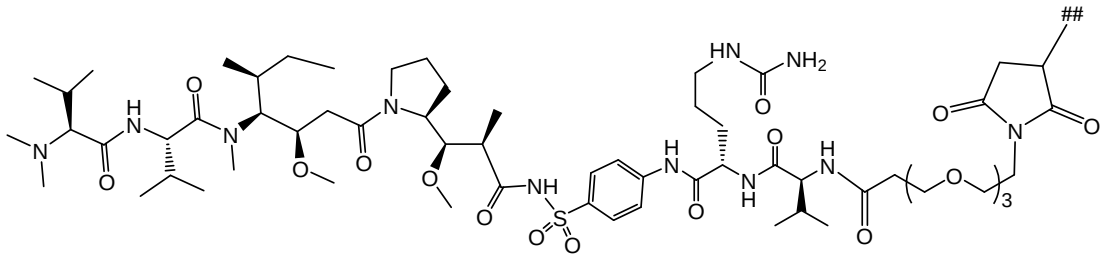
El Ab es un anticuerpo del factor tisular (TF), donde el Ab comprende una secuencia de cadena pesada que es QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWIAPYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTYSPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG Y UNA SECUENCIA DE CADENA LIGERA QUE ES DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSINNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYNLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC y

n es un número entero mayor que o igual a 1.

58. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 57, CARACTERIZADO POR QUE n se selecciona del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4 y 5.

59. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 57, CARACTERIZADO POR QUE n se selecciona del grupo que consiste en 2, 3 y 4.

60. Un conjugado anticuerpo y fármaco que comprende un anticuerpo (Ab) y uno o más enlaces-toxinas de la siguiente estructura:



;

CARACTERIZADO POR QUE:

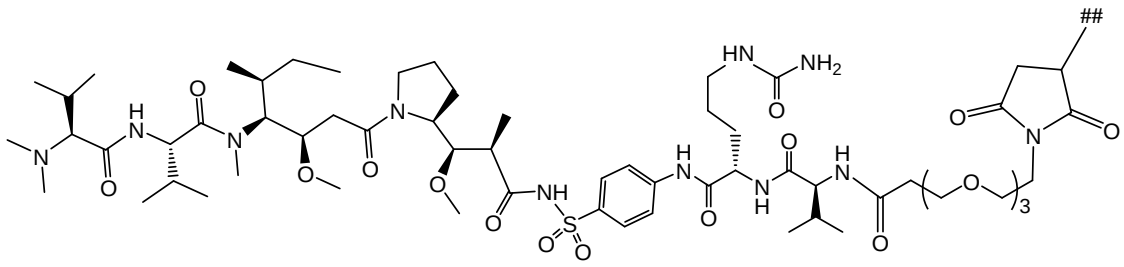
Ab es un anticuerpo contra el factor tisular (TF), donde Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2 y una VL-CDR3 del anticuerpo designado 25A3;

los uno o más enlaces-toxinas están unidos al Ab mediante un enlace covalente y

representa un punto de unión del enlace-toxina al Ab.

61. Una composición de conjugado anticuerpo y fármaco que comprende el conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 60, CARACTERIZADO POR QUE la composición comprende una variedad de especies de cociente fármaco-anticuerpo (DAR), donde el DAR promedio de la composición es de 2 a 4.

62. Un conjugado anticuerpo y fármaco que comprende un anticuerpo (Ab) y uno o más enlaces-toxinas de la siguiente estructura:



;

CARACTERIZADO POR QUE:

Ab es un anticuerpo contra el factor tisular (TF), donde Ab comprende una secuencia de cadena pesada que es QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDVYGISWVRQAPGQGLEWMGWI APYSGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDAGTY SPFGYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD YFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG y una secuencia de cadena ligera que es DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCQASQSINNWLAWYQQKPGKAPKLLIYKAYN LESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQLFQSLPPFTFGGGTKVEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGN SQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR GEC y

los uno o más enlaces-toxinas están unidos al Ab mediante un enlace covalente y

representa un punto de unión del enlace-toxina al Ab.

63. Una composición de conjugado anticuerpo y fármaco que comprende el conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 62, CARACTERIZADO POR

QUE la composición comprende una variedad de especies de cociente fármaco-anticuerpo (DAR), donde el DAR promedio de la composición es de 2 a 4.

64. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones anteriores, CARACTERIZADO POR QUE el Ab es multiespecífico.

65. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones anteriores, CARACTERIZADO POR QUE el Ab es un Fab, Fab', $F(ab')_2$, Fv, scFv, $(scFv)_2$, una molécula de anticuerpo de cadena única, un anticuerpo de dominio variable doble, un anticuerpo de dominio variable único, un anticuerpo lineal o un anticuerpo de dominio V.

66. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones anteriores, CARACTERIZADO POR QUE el anticuerpo comprende un andamiaje, opcionalmente, donde el andamiaje es Fc, opcionalmente Fc humano.

67. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones anteriores, CARACTERIZADO POR QUE el anticuerpo comprende una región constante de cadena pesada de una clase seleccionada de IgG, IgA, IgD, IgE e IgM.

68. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 67, CARACTERIZADO POR QUE el anticuerpo comprende una región constante de cadena pesada de la clase IgG, donde la región constante de cadena pesada es de una subclase seleccionada de IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4.

69. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 68, CARACTERIZADO POR QUE el anticuerpo comprende una región constante de cadena pesada de IgG1.

70. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 66, CARACTERIZADO POR QUE el Fc comprende una o más modificaciones, donde las una o más modificaciones dan como resultado un aumento de la semivida, un aumento de la citotoxicidad celular dependiente del anticuerpo (ADCC), un aumento de la fagocitosis celular dependiente del anticuerpo (ADCP), un aumento de la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) o

una disminución de la función efectora, en comparación con el Fc sin las una o más modificaciones.

71. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 70, CARACTERIZADO POR QUE, tras la administración a un sujeto portador de un tumor, el conjugado anticuerpo y fármaco disminuye el volumen del tumor o inhibe el crecimiento del tumor.

72. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 71, CARACTERIZADO POR QUE, tras la administración a un sujeto portador de un tumor, el conjugado anticuerpo y fármaco disminuye el volumen del tumor por al menos aproximadamente un 5%, aproximadamente un 10%, aproximadamente un 15%, aproximadamente un 20%, aproximadamente un 25%, aproximadamente un 30%, aproximadamente un 35%, aproximadamente un 40%, aproximadamente un 45%, aproximadamente un 50%, aproximadamente un 55%, aproximadamente un 60%, aproximadamente un 65%, aproximadamente un 70%, aproximadamente un 75%, aproximadamente un 80%, aproximadamente un 85%, aproximadamente un 90%, aproximadamente un 95% o aproximadamente un 99%.

73. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 72, CARACTERIZADO POR QUE, tras la administración a un sujeto portador de un tumor, el conjugado anticuerpo y fármaco inhibe el crecimiento del tumor por al menos aproximadamente un 5%, aproximadamente un 10%, aproximadamente un 15%, aproximadamente un 20%, aproximadamente un 25%, aproximadamente un 30%, aproximadamente un 35%, aproximadamente un 40%, aproximadamente un 45%, aproximadamente un 50%, aproximadamente un 55%, aproximadamente un 60%, aproximadamente un 65%, aproximadamente un 70%, aproximadamente un 75%, aproximadamente un 80%, aproximadamente un 85%, aproximadamente un 90%, aproximadamente un 95% o aproximadamente un 99%.

74. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 73, CARACTERIZADO POR QUE, tras la administración del

conjugado anticuerpo y fármaco a un sujeto, el conjugado anticuerpo y fármaco no tiene como resultado una toxicidad cutánea mensurable.

75. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 73, CARACTERIZADO POR QUE, tras la administración del conjugado anticuerpo y fármaco a un sujeto, el conjugado anticuerpo y fármaco tiene como resultado una disminución de la toxicidad respecto de un ADC anti-FT diferente.

76. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 75, CARACTERIZADO POR QUE la administración del conjugado anticuerpo y fármaco a un sujeto no necesita la administración de uno o más agentes antiinflamatorios.

77. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 75, CARACTERIZADO POR QUE la administración del conjugado anticuerpo y fármaco a un sujeto, tiene como resultado una disminución de la necesidad de uno o más agentes antiinflamatorios respecto de un ADC anti-FT diferente.

78. El conjugado anticuerpo y fármaco de la reivindicación 76 o 77, CARACTERIZADO POR QUE los uno o más agentes antiinflamatorios comprenden al menos un esteroide tópico y un esteroide sistémico.

79. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 78, CARACTERIZADO POR QUE, tras la administración del conjugado anticuerpo y fármaco a un sujeto, el conjugado anticuerpo y fármaco tiene como resultado una disminución o una ausencia de la neutropenia en el sujeto respecto de las concentraciones iniciales.

80. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 78, CARACTERIZADO POR QUE, tras la administración del conjugado anticuerpo y fármaco a un sujeto, el conjugado anticuerpo y fármaco no altera, aumenta ni disminuye la cantidad de monocitos en el sujeto respecto de las concentraciones iniciales.

81. El conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 75 a la 80, CARACTERIZADO POR QUE el ADC anti-FT diferente es idéntico al conjugado anticuerpo y fármaco, excepto porque está conjugado con MMAE.

82. Una composición farmacéutica que comprende el conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones anteriores y un portador farmacéuticamente aceptable.

83. Un método para tratar o prevenir una enfermedad o una afección en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz del conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 81 o la composición farmacéutica de la reivindicación 82.

84. Un método para tratar o retrasar la aparición del cáncer en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz del conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 81.

85. El método de la reivindicación 83, CARACTERIZADO POR QUE la enfermedad o afección es un cáncer.

86. El método de la reivindicación 84 o 85, CARACTERIZADO POR QUE el cáncer se selecciona del grupo que consiste en: cáncer de cabeza y cuello, cáncer ovárico, cáncer gástrico, cáncer esofágico, cáncer de cuello uterino, cáncer de próstata, cáncer pancreático, cáncer de mamas negativo para receptores de estrógeno (ER-), cáncer de mamas negativo para receptores de progesterona (PR-), cáncer de mamas triple negativo para HER2 (HER2-), glioblastoma, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, melanoma y cáncer de riñón.

87. El método de la reivindicación 83, CARACTERIZADO POR QUE la enfermedad o afección implica neovascularización.

88. El método de la reivindicación 87, CARACTERIZADO POR QUE la enfermedad o afección que implica neovascularización es un cáncer.

89. El método de la reivindicación 83, CARACTERIZADO POR QUE la enfermedad o afección implica una inflamación vascular.

90. El método de cualesquiera de las reivindicaciones de la 83 a la 89, que comprende además la administración de uno o más agentes terapéuticos al sujeto.

91. El método de la reivindicación 90, CARACTERIZADO POR QUE la composición además comprende uno o más de los agentes terapéuticos adicionales.

92. El método de la reivindicación 90, CARACTERIZADO POR QUE el agente terapéutico adicional está formulado en una diferente composición farmacéutica.

93. El método de la reivindicación 90, CARACTERIZADO POR QUE el agente terapéutico adicional se administra antes de administrar la composición.

94. El método de la reivindicación 90, CARACTERIZADO POR QUE el agente terapéutico adicional se administra después de administrar la composición.

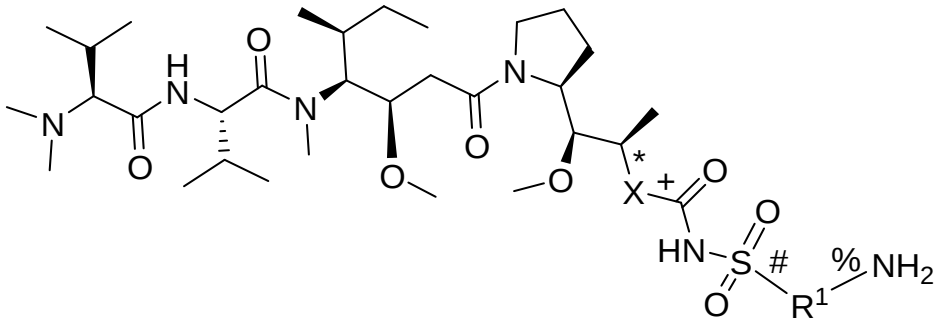
95. El método de la reivindicación 90, CARACTERIZADO POR QUE el agente terapéutico adicional se administra de manera contemporánea con la composición.

96. El método de cualesquiera de las reivindicaciones anteriores, CARACTERIZADO POR QUE el sujeto es un ser humano sujeto.

97. Un método para destruir una célula cancerosa, que comprende poner a la célula cancerosa en contacto con una cantidad eficaz del conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 81.

98. Un proceso para preparar un conjugado anticuerpo y fármaco que comprende:

(A) la reacción de un grupo nucleófilo o un grupo electrófilo sobre una proteína de unión al antígeno (Ab) que se une al dominio extracelular del factor tisular (TF) humano (SEQ ID n.º: 810) con un conector bifuncional de un producto intermedio de Ab-conector y la reacción del producto intermedio de Ab-conector con el grupo $-NH_2$ de un compuesto de la Fórmula general **I**:

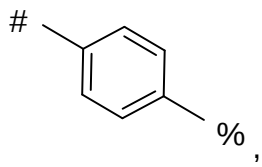
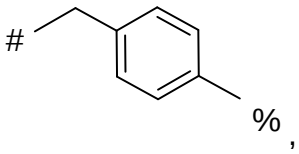
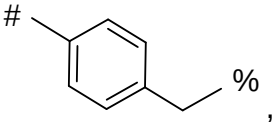


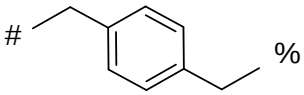
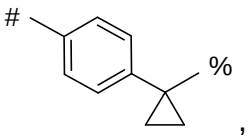
Fórmula I

CARACTERIZADO POR QUE:

X es *-C(O)NHCH(CH_2(R^2))-$^{+}$, donde * y + representan los respectivos puntos de unión, como se indica en la Fórmula **I**, o X está ausente;

R^1 se selecciona del grupo que consiste en:

 ,  ,  ,

 y  ,

donde # y % representan los respectivos puntos de unión, como se indica en la Fórmula **I** y R^2 es el fenilo,

Para producir el conjugado de anticuerpos y fármacos o

(B) la reacción del grupo -NH_2 en el compuesto de la Fórmula general **I** con un conector bifuncional para formar un producto intermedio enlace-toxina y la reacción del producto intermedio enlace-toxina con un grupo nucleófilo o electrófilo sobre una proteína de unión al antígeno (Ab) que se une con el dominio extracelular del factor tisular (TF) humano (SEQ ID n.º: 810) para producir el conjugado de anticuerpos y fármacos, donde, en A) o B),

a) el Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2, y una VL-CDR3, donde

i. la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 877,

ii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A3,

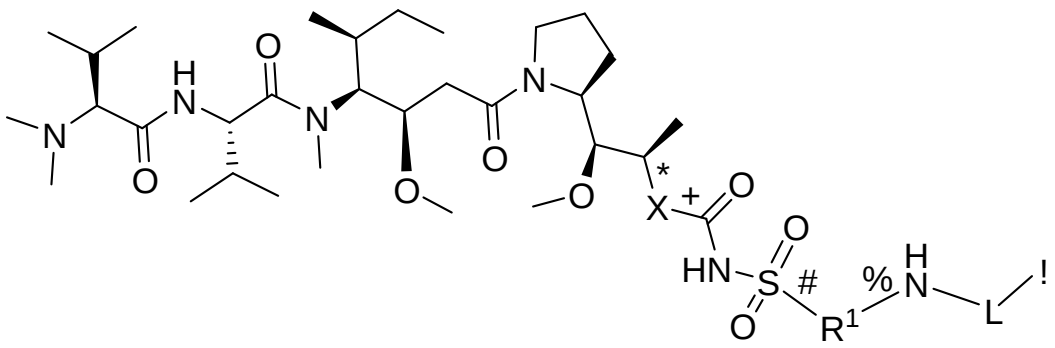
iii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A,

iv. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5,

v. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5-T o

vi. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25G1 y

b) el conjugado de anticuerpos y fármacos comprende una o más fracciones representadas por la Fórmula IV:



Fórmula IV

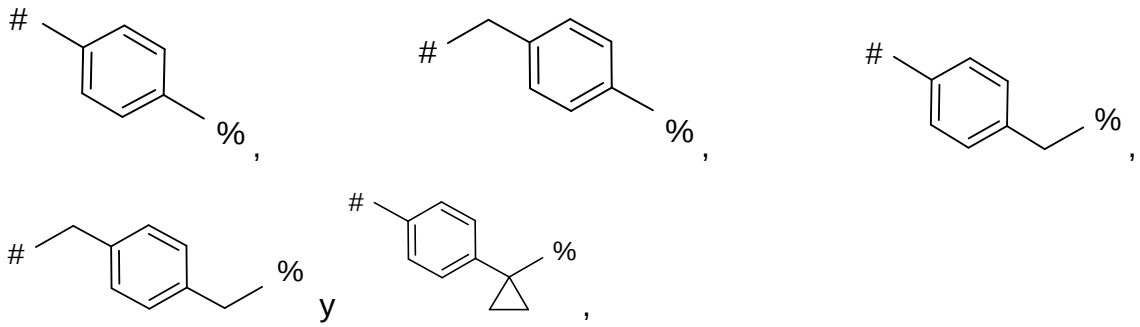
donde:

X es *-C(O)NHCH(CH_2(R^2))-$^{+}$, donde * y + representan los respectivos puntos de unión, como se indica en la Fórmula IV, o X está ausente;

L es un conector;

! representa el punto de unión de L con el Ab, donde L se une al Ab mediante un enlace covalente;

R^1 se selecciona del grupo que consiste en:

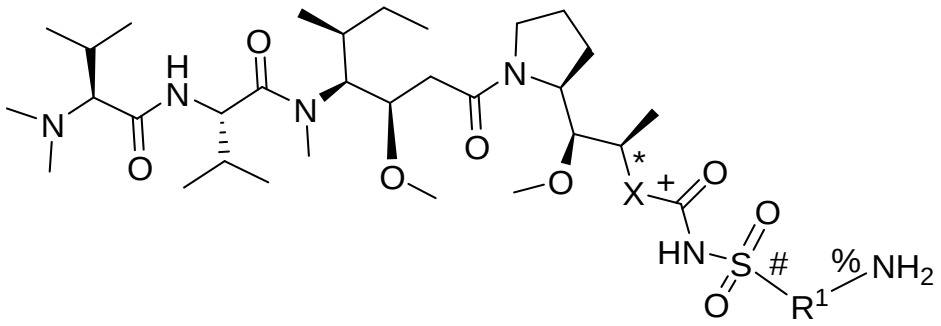


donde # y % representan los puntos de unión respectivos conforme se indica en la Fórmula VI y

R^2 es fenilo.

99. Un proceso para preparar un conjugado anticuerpo y fármaco que comprende:

A) hacer reaccionar un grupo nucleófilo o electrófilo sobre una proteína de unión al antígeno (Ab) que se une al dominio extracelular del factor tisular (TF) humano (SEQ ID n.º810) con un primer componente de conector de un conector bifuncional que comprende dos o más componentes de conector, seguido de la adición secuencial de los componentes restantes del conector para formar un producto intermedio del conector y el Ab, y hacer reaccionar el producto intermedio del conector y el Ab con el grupo $-NH_2$ o un compuesto de la Fórmula **I** general:

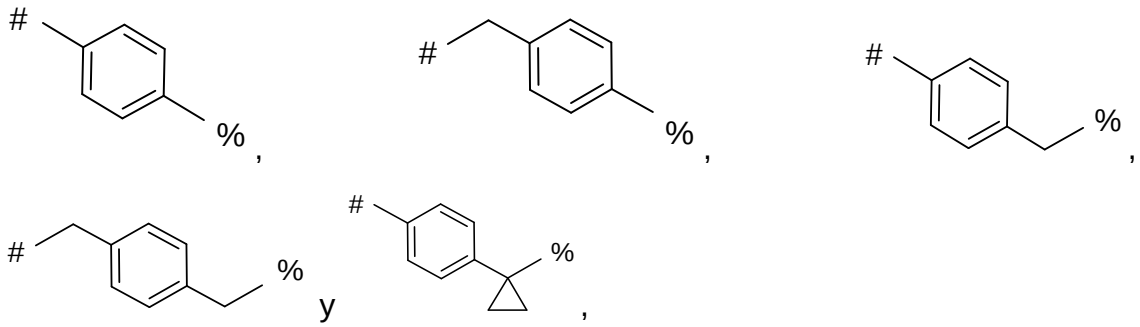


Fórmula I

CARACTERIZADO POR QUE:

X es *-C(O)NHCH(CH_2(R^2))-$^{+}$, donde * y + representan los respectivos puntos de unión, como se indica en la Fórmula **I**, o X está ausente;

R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



donde # y % representan los respectivos puntos de unión, como se indica en la Fórmula **I** y R^2 es el fenilo,

Para producir el conjugado de anticuerpos y fármacos o

B) hacer reaccionar el grupo -NH_2 sobre el compuesto de la Fórmula **I** general con un primer componente de conector de un conector bifuncional que comprende dos o más componentes de conector, seguido de la adición secuencial de los componentes restantes del conector para formar un producto intermedio de toxinas y conectores, y hacer reaccionar el producto intermedio de toxinas y conectores con un grupo nucleófilo o electrófilo sobre una proteína de unión al antígeno (Ab) que se une al dominio extracelular del factor tisular (TF) humano (SEQ ID n.º 810) para producir el conjugado de anticuerpos y fármacos, donde, en A) o B),

a) el Ab comprende una VH-CDR1, una VH-CDR2, una VH-CDR3, una VL-CDR1, una VL-CDR2, y una VL-CDR3, donde

i. la VH-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 872, la VH-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 873, la VH-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 874, la VL-CDR1 comprende la SEQ ID n.°: 875, la VL-CDR2 comprende la SEQ ID n.°: 876 y la VL-CDR3 comprende la SEQ ID n.°: 877,

ii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A3,

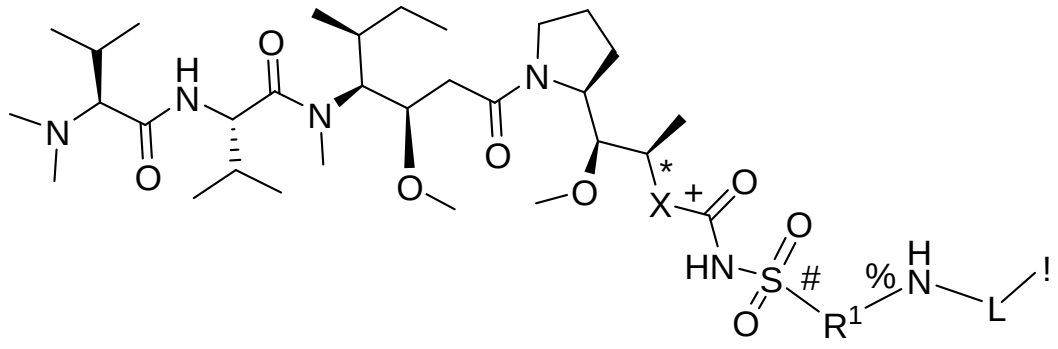
iii. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A,

iv. la VH-CDR1, la VH-CDR2, la VH-CDR3, la VL-CDR1, la VL-CDR2 y la VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5,

v. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25A5-T o

vi. VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 y VL-CDR3 son del anticuerpo designado 25G1 y

b) el conjugado de anticuerpos y fármacos comprende una o más fracciones representadas por la Fórmula IV:



Fórmula IV

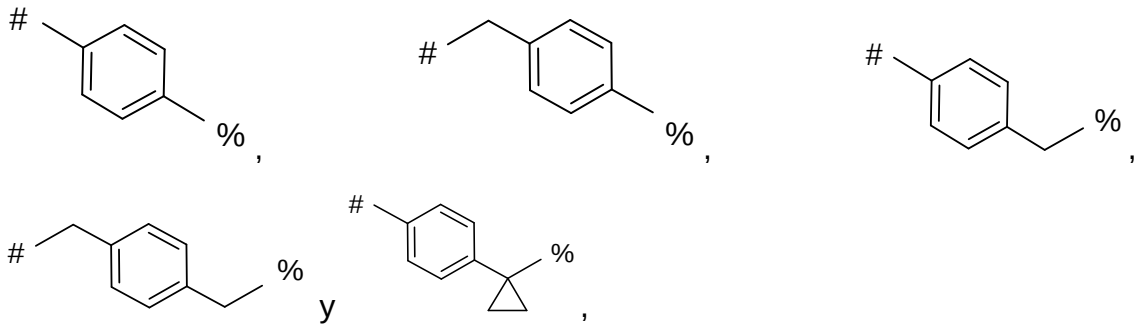
donde:

X es *-C(O)NHCH(CH_2(R^2))-$^{+}$, donde * y + representan los respectivos puntos de unión, como se indica en la Fórmula IV, o X está ausente;

L es un conector;

! representa el punto de unión de L con el Ab, donde L se une al Ab mediante un enlace covalente;

R^1 se selecciona del grupo que consiste en:



donde # y % representan los puntos de unión respectivos conforme se indica en la Fórmula VI y

R^2 es fenilo.

100. El proceso según la reivindicación 98 o la reivindicación 99, CARACTERIZADO POR QUE el grupo nucleófilo o electrófilo del Ab es un tiol o una amina.

101. El proceso según la reivindicación 100, que además comprende el tratamiento del Ab con un agente reductor para disminuir uno o más enlaces disulfuro en el Ab para proporcionar el grupo tiol nucleófilo.

102. El proceso según cualesquiera de las reivindicaciones de la 98 a la 101, CARACTERIZADO POR QUE L está representada por:

$$Z\left[Str\right]_s AA_1\left[AA_2\right]_m\left[X\right]_o D$$

Fórmula VII

donde:

Z representa un grupo funcional que se une a un grupo diana del Ab;

D representa el punto de unión al grupo amino como se indica en la Fórmula **I**;

Str es un tensor;

AA_1 y AA_2 son cada uno, independientemente, un aminoácido, donde AA_1-$[AA_2]_m$ forma un lugar de escision de proteasa;

X es un grupo autoinmolativo;

s es un número entero seleccionado de 0 y 1;

m es un número entero seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3 y 4; y

o es un número entero seleccionado de 0, 1 y 2.

103. Un equipo que comprende el conjugado anticuerpo y fármaco de cualesquiera de las reivindicaciones de la 1 a la 81 o la composición farmacéutica de la reivindicación 82 y las instrucciones para su uso.

CONJUGADOS DE ANTICUERPOS Y FÁRMACOS ANTI-FACTOR TISULAR Y MÉTODOS RELACIONADOS

RESUMEN

En el presente documento se proporcionan anticuerpos que se unen específicamente al factor tisular (TF) humano, conjugados de anticuerpos-fármacos (ADC) antiTF y composiciones que comprenden a los anticuerpos o ADC. También se proporcionan en el presente documento métodos para fabricar y usar los anticuerpos o ADC, tales como métodos terapéuticos y de diagnóstico.